Л.Б. Борисов

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

МИА

Медицинское информационное агентство

УЧЕБНАЯ ЛИТЕРАТУРА
ДЛЯ СТУДЕНТОВ МЕДИЦИНСКИХ ВУЗОВ

100-летию Санкт-Петербургского Государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова и первой в России самостоятельной кафедре микробиологии ПОСВЯЩАЕТСЯ

Л.Б. Борисов

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

Издание четвертое, дополненное и переработанное

Допущено Министерством образования Российской Федерации в качестве учебника для студентов высших заведений, обучающихся по медицинским специальностям

МЕДИЦИНСКОЕ ИНФОРМАЦИОННОЕ АГЕНТСТВО
Москва ♦ 2005

УДК 612.012.1 (075)
ББК 52.64
Б59

Автор: *Борисов Леонид Борисович* — профессор, академик РАЕН, засл. деятель науки РФ.

Учебник написан при участии:

Б.Н. Софонова, А.Д. Альштейна, Н.П. Елинова, В.А. Зуева, А.М. Королюка, Б.Н. Козьмина-Соколова, А.П. Красильникова, В.М. Сафьяновой, Т.Т. Смольской, И.С. Фрейдлин.

Рецензенты:

В.П. Иванов — профессор, заслуженный работник высшей школы, зав. кафедрой микробиологии СПб ГМА им. И.И. Мечникова.

В.Б. Сбойчиков — профессор, начальник каф. микробиологии Военно-медицинской Академии.

М.М. Соловьев — профессор, зав. кафедрой хирургической стоматологии СПб ГМУ им. акад. И.П. Павлова.

Борисов Л.Б.

Б59 Медицинская микробиология, вирусология, иммунология: Учебник. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2005. 736 с.: ил.

ISBN 5-89481-278-Х

В соответствии с учебной програмой учебник состоит из четырех частей. Часть первая «Общая медицинская микробиология» содержит сведения об истории микробиологии, вирусологии и иммунологии, о систематике микроорганизмов, морфологии и ультраструктуре, физиологии и биохимии, генетике, микроэкологии, включает микробиологические и молекулярно-биологические основы химиотерапии. Часть вторая «Инфектология» посвящена молекулярно-биологическим и микробиологическим аспектам патогенности и вирулентности бактерий, их токсинам, формам и видам инфекции. Часть третья «Иммунология» содержит современные сведения о центральных и периферических органах иммунной системы, иммуногенезе, иммунопатологических состояниях и прикладной иммунологии. Часть четвертая «Частная медицинская микробиология» включает четыре главы: «Медицинская бактериология», «Медицинская вирусология», «Медицинская микология» и «Медицинская протозоология». Специальная глава «Основы клинической микробиологии» написана для субординаторов 6 курса, а глава «Микробиология и иммунология стоматологических заболеваний» — для студентов стоматологических факультетов. В конце каждой главы приводятся вопросы для самоконтроля.

Учебник предназначен для студентов и аспирантов всех факультетов медицинских вузов.

УДК 612.012.1 (075)
ББК 52.64

ISBN 5-89481-278-Х

ПРЕДИСЛОВИЕ

В канун наступающего столетия, ознаменовавшегося крупными достижениями во многих разделах микробиологии, вирусологии, иммунологии и других медико-биологических дисциплин, возникла необходимость в пересмотре устаревших положений и введения в учебник новых сведений, касающихся механизмов патогенности рассматриваемых микроорганизмов, патогенеза и иммунологии вызываемых ими инфекционных заболеваний, их вакцинопрофилактики, химиотерапии и лабораторной диагностики.

Однако в начале XXI века приходится признать несоответствие современного уровня науки с использующимися в настоящее время устаревшими методами обучения, которые по сути дела не изменились за прошедшие столетия. Это создает большие трудности в доведении до студентов новой информации, которая во все возрастающем количестве поступает в наше распоряжение. В будущем эти трудности возрастут. По нашему мнению, настало время пересмотреть существующую систему обучения студентов в медицинских и биологических вузах и начать переход на персональное компьютерное обучение. Для этого кроме специальных обучающих компьютерных программ потребуются компьютерные учебники — новые учебные пособия, до сих пор не известные высшей медицинской школе.

Компьютерные учебники должны быть простыми для пользователей-студентов, содержать полный объем необходимой информации и максимум иллюстративного материала высокого качества. В отличие от обычных учебников фактический материал в них излагается в форме ключевых понятий, сформулированных в виде вопросов с вариантами правильных и ошибочных ответов. Это потребует от обучающего активной работы, понимания, а не механического запоминания отдельных фактов. Для выбора и аргументации правильных ответов учебник должен быть снабжен соответствующими пояснениями, иллюстрированными высококачественными цветными и черно-белыми рисунками, таблицами, схемами, микроскопическими и электронно-микроскопическими фотографиями. Обучающая компьютерная про-

грамма должна соответствовать определенным требованиям, в частности, обеспечить невозможность перехода к изучению последующего вопроса без получения правильного ответа на предыдущий. Компьютерный учебник не потребует переизданий, поскольку в него можно будет постоянно вводить новую информацию, неограниченное количество иллюстративного материала и убирать устаревшие сведения. Тестовая программа учебника позволит опрашивать студентов с указанием оценки и появлением на дисплее правильных ответов наряду с ответами студента.

Работа студентов с компьютерным учебником должна происходить во внеучебное время в специально оборудованных помещениях (библиотеках). Следует особо отметить, что компьютерное обучение, предусматривающее активное усвоение фактического материала, не снижает значение лекций. Однако они в этом случае должны носить обзорный и проблемный характер, поскольку будут читаться знакомой с фактическим материалом студенческой аудитории.

Компьютерные учебники по микробиологии, вирусологии и иммунологии были составлены нами с помощью специально разработанной для этой цели компьютерной программы еще в середине 90-х годах. Пятилетний опыт работы с ними показал, что студенты с большим интересом относятся к персональному компьютерному обучению, быстро оценивают его преимущества, показывая при этом более глубокое знание изучаемого материала.

Однако до настоящего времени медицинские вузы не могут перейти на персональное компьютерное обучение из-за многих причин, рассмотренных нами в специальных статьях*. Однако хочется надеяться, что уже в первом десятилетии XXI в. персональное компьютерное обучение, преимущество которого перед традиционными методами, очевидно, заменит их как не отвечающих требованиям времени.

---

* *Борисов Л.Б.* Вестник Санкт-Петербургского отделения Российской Академии естественных наук. 1997. Т. 1. № 3. С. 216–222.

Борисов Л.Б. Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова. «Ученые записки». 1997. Т. IV. № 1. С. 96–100.

ВВЕДЕНИЕ

После сдачи в печать первого издания учебника «Медицинская микробиология, вирусология, иммунология» (М.: Медицина, 1994) прошло около 10 лет. За истекшие годы наши знания по многим разделам медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии пополнились новыми важными сведениями, что потребовало приведения в соответствие содержания учебника уровню науки конца XX в. В этой связи в состав авторского коллектива были включены российские специалисты, наиболее компетентные в соответствующих разделах микробиологии, вирусологии и иммунологии.

Конечно, мы не сочли целесообразным ввести в учебник всю имеющуюся в нашем распоряжении новую информацию, а отобрали наиболее проверенный и важный, с нашей точки зрения, фактический материал, необходимый в первую очередь для изучения других медико-биологических дисциплин, а также гигиены, и всех клинических дисциплин, а инфекционных болезней в особенности, чтобы избежать перегрузки учебника излишней информацией. Следует особо отметить, что микробиология, вирусология и иммунология, как, впрочем, и другие медико-биологические дисциплины, связаны жестким лимитом учебного времени, который за последние десятилетия практически не изменился, несмотря на то, что количество информации по данным дисциплинам возросло на несколько порядков. Это потребовало от авторов тщательно отбора фактического материала, отдавая в первую очередь предпочтение данным, недостаточно полно изложенным в предыдущем издании нашего учебника, а также в учебниках по другим дисциплинам.

Отбор фактического материала проводился с помощью предложенной нами системы анализа и оценки интеграции в преподавании микробиологии, вирусологии и иммунологии с теоретическими, медико-биологическими и клиническими дисциплинами*. Это позволило нам избежать дублирования той информации, которую студенты раннее получили на кафедрах биологии с генетикой, биохимии, гистологии и других. Поэтому некоторые общие сведения, касающиеся структуры и функций нуклеиновых кислот, общей генетики, ферментов, процессов строительного и энергетического метаболизма и др., не вошли в учеб-

---

* *Борисов Л.Б., Козьмин-Соколов Б.Н., Фрейдлин И.С.* // Микробиология. 1981. № 3. С. 83–89.

ник, поскольку они изучались студентами на вышеупомянутых кафедрах. В разделе общей медицинской микробиологии главным образом рассмотрены те структуры и метаболические процессы, которые присущи микроорганизмам и отсутствуют у эукариотических клеток, особенно у патогенных бактерий. Вместе с тем большее внимание в настоящем издании уделено онкогенным вирусам, вирусным и прионовым медленным инфекциям и другим темам, упущенным либо недостаточно полно изложенным в учебниках по микробиологии и другим медико-биологическим дисциплинам, хотя их значение в патологии человека неуклонно возрастает.

В соответствии с учебной программой учебник состоит из четырех частей: 1 — «Общая медицинская микробиология и вирусология» (главы 1–8), 2 — «Инфектология (учение об инфекции)» (главы 9–10), 3 — «Иммунология» (главы 11–19), 4 — «Частная медицинская микробиология», включающая «Медицинскую бактериологию» (глава 20), «Медицинскую вирусологию» (глава 21), «Медицинскую микологию» (глава 22), «Медицинскую протозоологию» (глава 23), а также две специальные главы — «Основы клинической микробиологии» (глава 24) и «Микробиология и иммунология стоматологических заболеваний» (глава 25). Первая предназначена для субординаторов 6-го курса лечебного и педиатрического факультетов, вторая — для студентов стоматологических факультетов.

Порядок изложения в учебнике отдельных групп возбудителей инфекционных заболеваний человека в главах «Медицинская бактериология», «Медицинская вирусология» соответствует их систематическому положению. Исключения составляют вирусы гепатитов и онкогенные вирусы, изложенные в самостоятельных разделах, поскольку это в значительной мере облегчает студентам их изучение. В главе «Основы клинической микробиологии» отдельные группы или виды бактерий рассмотрены на основании патогенетических особенностей гнойно-воспалительных, кишечных, респираторных и других инфекций, вызванных как патогенными, так и условно-патогенными микроорганизмами.

Таким образом, в настоящем учебнике соблюдены оба принципа изложения фактического материала по частной медицинской микробиологии, что дает студентам всестороннее представление об изучаемых патогенах. В конце каждой главы приводятся вопросы для самоконтроля. Фамилии авторов отдельных глав читатель найдет в оглавлении учебника. В данном издании, так же как в предыдущем, использованы электронно-микроскопические фотографии вирусов и бактерий, предоставленные профессором А.Ф. Быковским и профессором В.Л. Поповым, за что авторы выражают им свою благодарность. Мы благодарим также всех, сделавших замечания по первому изданию нашего учебника.

Часть первая
ОБЩАЯ МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

ГЛАВА 1
ПРЕДМЕТ И ЗАДАЧИ МИКРОБИОЛОГИИ В ИХ ИСТОРИЧЕСКОМ РАЗВИТИИ

Микробиология (греч. *mikros* — малый, лат. *bios* — жизнь) — наука, предметом изучения которой являются микроскопические существа, названные микроорганизмами, или микробами, их биологические признаки, систематика, экология, взаимоотношения с другими организмами, населяющими нашу планету, — животными, растениями и человеком.

Микроорганизмы — наиболее древняя форма организации жизни на Земле, они появились задолго до возникновения растений и животных — примерно 3–4 млрд. лет тому назад. В настоящее время они представляют собой по количеству самую значительную и самую разнообразную часть организмов, населяющих биосферу Земли. Это послужило основанием для разделения всех микроорганизмов на 4 больших царства: бактерии, грибы, простейшие и вирусы. Каждая из них является объектом изучения отдельных разделов микробиологии, самостоятельных дисциплин — бактериологии, микологии, протозоологии и вирусологии.

В процессе развития микробиологии были разработаны оригинальные методы исследования, многие заимствованы из других дисциплин — биофизики, биохимии, генетики, цитологии и т.д.

За всю историю своего развития перед микробиологией так же, как и другими естественными науками, стояли определенные цели и задачи, успешное развитие которых способствовало научному и

общественному прогрессу всего человечества. Это в свою очередь стимулировало развитие специализированных разделов микробиологии.

Так сформировались общая, техническая, сельскохозяйственная, ветеринарная, медицинская, санитарная, морская, космическая микробиология.

Общая микробиология изучает наиболее общие закономерности, свойственные каждой группе перечисленных микроорганизмов: структуру, метаболизм, генетику, экологию и т.д.

Основной задачей технической (промышленной) микробиологии является разработка биотехнологии синтеза микроорганизмами биологически активных веществ: белков, витаминов, ферментов, спиртов, органических кислот, антибиотиков и др.

Сельскохозяйственная микробиология занимается изучением микроорганизмов, которые участвуют в круговороте веществ, используются для изготовления удобрений, вызывают заболевания растений, и другими проблемами.

Ветеринарная микробиология изучает возбудителей заболеваний животных, разрабатывает методы их биологической диагностики, специфической профилактики и этиотропного лечения, направленного на уничтожение микробов-возбудителей в организме больного животного.

Предметом изучения медицинской микробиологии являются болезнетворные (патогенные) и условно-патогенные для человека микроорганизмы, а также разработка методов микробиологической диагностики, специфической профилактики и этиотропного лечения вызываемых ими инфекционных заболеваний.

Одновременно с медицинской микробиологией сформировалась иммунология, которая занимается изучением специфических механизмов защиты организмов людей и животных от болезнетворных микроорганизмов и другими проблемами.

Предметом изучения санитарной микробиологии, тесно связанной с медицинской и ветеринарной микробиологией, является санитарно-микробиологическое состояние объектов окружающей среды, пищевых продуктов и напитков.

Важнейшая задача данного раздела — разработка санитарно-микробиологических нормативов и методов индикации патогенных микроорганизмов в различных объектах окружающей среды.

В большинстве медицинских вузов на кафедре микробиологии изучаются три самостоятельных дисциплины — медицинская микробиология, вирусология и иммунология, в становлении и развитии которых просматривается несколько исторических периодов.

1. Начальный период, который охватывает период второй половины XVIII в. — середины XIX в. Он связан с созданием А. Левенгуком

простейшего микроскопа и открытием микроскопических существ, не видимых глазом человека.

2. Пастеровский период (вторая половина XIX в.), связанный с именем Луи Пастера, характеризуется становлением и развитием микробиологии и иммунологии как самостоятельной единой естественнонаучной дисциплины, имеющей свои объекты и оригинальные методы их исследования.

3. Третий период, охватывающий первую половину XX в., характеризуется дальнейшим развитием микробиологии и иммунологии и становлением вирусологии — науки о вирусах, особой форме живой материи.

4. Современный период, начало которому было положено в середине текущего столетия научно-технической революцией в естествознании.

1.1. НАЧАЛЬНЫЙ ПЕРИОД РАЗВИТИЯ МИКРОБИОЛОГИИ

Мысль о существовании невидимых живых существ возникла еще в глубокой древности. Однако открытие мира микроорганизмов произошло только в XVII в. Первооткрывателем микробов явился *Антоний Левенгук* (1632–1723), купец по профессии, который стал крупнейшим натуралистом своего времени. Овладев искусством шлифования стекол, он изготовил линзы, которые давали большие увеличения. С их помощью Левенгук обнаружил мельчайших «живых зверьков» animalculae vivae в дождевой воде, зубном налете, загнившем мясе и других предметах. Свои наблюдения он обобщил в книге «Тайны природы, открытые Антонием Левенгуком».

Антоний Левенгук
(1632–1723)

Таким образом, был установлен сам факт существования микроорганизмов, хотя роль их продолжала оставаться неизвестной.

Предположения о роли микроорганизмов в возникновении заразных болезней человека, и прежде всего чумы, высказывались некоторыми учеными и врачами (А. Кирхер, Д. Самойлович и др.) еще в конце XVI в. Однако только в 30-х годах XIX в., после обнаружения трихомонад в вагинальном содержимом женщин, страдающих трихомонозом, а также грибов у больных фавусом (паршей) и трихофитией (стригущим лишаем), позволило французскому медику Я. Генле сформулировать идею о связи между инфекциями и их возбудителями. Эта связь проявлялась в способности возбудителя размножаться в тканях и вызывать типичное течение инфекционных болезней. В 1849–1850 гг. были описаны палочковидные бактерии, обнаруженные в крови коров и овец, больных сибирской язвой.

Эти и другие наблюдения предшествовали признанию этиологической роли микроорганизмов в инфекционных заболеваниях людей и животных.

1.2. РАЗВИТИЕ МИКРОБИОЛОГИИ ВО ВТОРОЙ ПОЛОВИНЕ XIX В. (ПАСТЕРОВСКИЙ ПЕРИОД)

Развивающаяся винодельческая промышленность Франции и других стран требовала решения ряда биотехнологических вопросов. В частности, выяснения и устранения причин скисания вина. Люди в течение двух тысячелетий получали виноградное вино с помощью спиртового брожения. Однако его природа оставалась загадкой. В области медицины также назрела необходимость установления причин нагноения ран и природы заразных заболеваний. История терпеливо ждала своего гения, которым оказался молодой французский химик *Луи Пастер* (1822–1895).

Л. Пастер экспериментально доказал, что спиртовое брожение вызывается определенными видами микроорганизмов, а скисание вина связано с попаданием в виноградный сок посторонних видов, вызывающих уксуснокислое брожение. Для борьбы с ним он предложил метод термической обработки виноградного сока.

Полученные данные позволили Пастеру допустить, что инфекционные болезни человека представляют по сути «брожение соков организма», вызванное определенными микроорганизмами. Они же являются виновниками гнойных послеоперационных осложнений. Идеи Пастера разделил и английский хирург Д. Листер, который впервые использовал раствор карболовой кислоты для обеззараживания ран. Его статья «Об антисептическом принципе в хирурги-

ческой практике» (1867) положила начало антисептической эре в медицине.

Луи Пастер
(1822–1895)

В эти же годы Пастер упорно доказывал скептически настроенным медикам, что родильная горячка, от которой погибала каждая пятая рожавшая в Париже женщина, фурункулез, остеомиелит и сибирская язва вызываются определенными микроорганизмами. Случай определил дальнейшую направленность научных поисков Пастера. Работая с микроорганизмами — возбудителями куриной холеры, он получил культуры, потерявшие болезнетворные свойства. Прививка здоровым птицам такового штамма предохраняла их от последующего заражения болезнетворными возбудителями. Пастер назвал данный метод вакцинацией в честь *Э. Дженнера*, который еще в 1797 г. использовал прививки материала, взятого от больных оспой коров (осповакцины) для предупреждения заболеваний натуральной оспой среди людей.

Таким образом, открытие Дженнером отдельного факта, сущность которого оставалась неясной на протяжении почти 100 лет, было преобразовано Пастером в общую закономерность, свойственную болезнетворным микроорганизмам. Он открыл способ превращения смертельного «яда» в «противоядие» — вакцину.

Вершиной всей научной деятельности Пастера и апофеозом торжества микробиологической науки стали исследования, закончившиеся в 1886 г. изготовлением вакцины против бешенства. Хотя Пастеру не удалось обнаружить возбудителя бешенства у больных собак, он доказал, что последний находится в головном мозге больных животных. Из мозга зараженного бешенством кролика Пастер приготовил вакцину, которую случай помог ему испытать на мальчике, искусанном бешеным волком. Результат превзошел все ожидания — мальчик остался жив. В Париж из разных стран стали прибывать люди, искусанные бешеными животными. Они искали спасение в лаборатории Пастера, вследствие чего потребовались большие количества вакцин. Одной из первых стран, где было налажено производство антирабической вакцины по методу Пастера, оказалась Россия. В июне 1886 г. И.И. Мечников и Н.Ф. Гамалея организовали в Одессе лабораторию, в которой начали проводить прививки против бешенства.

Р. Кох
(1843–1910)

Эта лаборатория в честь Пастера была названа Пастеровской станцией.

Гениальные идеи и открытия Л. Пастера составили целую эпоху в биологии и медицине и нашли широкое практическое применение. Он явился основоположником микробиологии как фундаментальной науки, так и основателем французской школы микробиологов, которая оказала существенное влияние на развитие микробиологии в других странах и прежде всего в России.

Примерно в те же годы сформировалась и успешно работала немецкая школа микробиологов во главе с *Робертом Кохом* (1843–1910). Кох начал свои исследования в то время, когда роль микроорганизмов в этиологии инфекционных заболеваний подвергалась серьезным сомнениям. Для ее доказательства требовались четкие критерии, которые были сформулированы Кохом и вошли в историю под названием «триады Генле — Коха». Суть триады заключалась в следующем:

1) предполагаемый микроб-возбудитель всегда должен обнаруживаться только при данном заболевании, не выделяться при других болезнях и от здоровых лиц;

2) микроб-возбудитель должен быть выделен в чистой культуре;

3) чистая культура данного микроба должна вызвать у экспериментальных зараженных животных заболевание с клинической и патологической картиной, аналогичной заболеванию человека.

Практика показала, что все три пункта имеют относительное значение, поскольку далеко не всегда удается выделить возбудителя болезни в чистой культуре и вызвать у подопытных животных заболевание, свойственное человеку. Кроме того, болезнетворные микроорганизмы были найдены у здоровых людей, особенно после перенесенного заболевания. Тем не менее на ранних этапах развития и формирования медицинской микробиологии, когда из организма больных выделяли многих микроорганизмов, не имеющих отношения к данной болезни, триада сыграла важную роль для установления истинного возбудителя заболевания. Исходя из своей концепции, Кох окончательно доказал, что ранее обнаруженный у животных, больных сибирской язвой, микроорганизм отвечает требованиям триады и является истинным возбудителем данного заболевания. Попут-

но Кох установил способность сибиреязвенных бактерий образовывать споры.

Велика роль Коха в разработке основных методов изучения микроорганизмов. Так, он ввел в микробиологическую практику метод выделения чистых культур бактерий на твердых питательных средах, впервые использовал анилиновые красители для окраски микробных клеток и применил для их микроскопического изучения иммерсионные объективы и микрофотографирование.

В 1882 г. Кох доказал, что выделенный им микроорганизм является возбудителем туберкулеза, который был впоследствии назван палочкой Коха. В 1883 г. Кох с сотрудниками выделил возбудителя холеры — холерный вибрион (вибрион Коха).

С 1886 г. Кох полностью посвящает свои исследования поискам средств, эффективных для лечения или профилактики туберкулеза. В ходе этих исследований им был получен первый противотуберкулезный препарат — туберкулин, представляющий собой вытяжку из культуры туберкулезных бактерий. Хотя туберкулин не обладает лечебным действием, его с успехом применяют для диагностики туберкулеза.

Научная деятельность Коха получила мировое признание, и в 1905 г. ему была присуждена Нобелевская премия по медицине.

Используя методы, разработанные Кохом, французские и немецкие бактериологи открыли многие бактерии, спирохеты и простейшие — возбудители инфекционных болезней человека и животных. Среди них возбудители гнойных и раневых инфекций: стафилококки, стрептококки, клостридии анаэробной инфекции, кишечная палочка и возбудители кишечных инфекций (брюшнотифозная и паратифозные бактерии, дизентерийные бактерии Шига), возбудитель кровяной инфекции — спирохета возвратного тифа, возбудители респираторных и многих других инфекций, в том числе вызванных простейшими (плазмодии малярии, дизентерийная амеба, лейшмании). Этот период называют «золотым веком» микробиологии.

Тогда же была открыта способность некоторых бактерий образовывать токсины (экзотоксины). Так, в 1888 г. Э. Ру и А. Иерсен впервые выделили дифтерийный экзотоксин, что объяснило патогенетические особенности дифтерии. Через несколько лет Э. Ру и Э. Беринг получили антитоксическую противодифтерийную сыворотку, спасшую сотни тысяч детей от смерти, а в 1894 г. Г.Н. Габричевский наладил ее производство в России.

Эти работы заложили основы иммунологии. Одним из основоположников новой науки явился *И.И. Мечников* (1845–1916) — создатель фагоцитарной, или клеточной, теории иммунитета. В 1888 г. Мечников принял приглашение Пастера и возглавил лабораторию в

И.И. Мечников
(1845–1916)

П. Эрлих
(1854–1915)

его институте. Однако Мечников не порвал тесных связей со своей родиной. Он неоднократно приезжал в Россию, а в его Парижской лаборатории работали многие русские врачи. Среди них Я.Ю. Бардах, В.А. Барыкин, А.М. Безредка, М.В. Вейнберг, Г.Н. Габричевский, В.И. Исаев, Н.Н. Клодницкий, И.Г. Савченко, Л.А. Тарасевич, В.А. Хавкин, Ц.В. Циклинская, Ф.Я. Чистович и другие, которые внесли существенный вклад в развитие отечественной и мировой микробиологии, иммунологии и патологии.

Большое созидающее значение приобрела дискуссия, развернувшаяся между Мечниковым и его сторонниками с последователями гуморальной теории, видевшими в основе иммунитета действие антител. Начало учению об антителах положили работы П. Эрлиха, а затем Ж. Борде, выполненные в последнее десятилетие XIX в.

Вклад *Пауля Эрлиха* (1854–1915) в развитие иммунологии, так же как в становление и развитие химиотерапии, неоценим. Этот ученый впервые сформулировал понятия об активном и пассивном иммунитете и явился автором всеобъемлющей теории гуморального иммунитета, в которой объяснялось как происхождение антител, так и их взаимодействие с антигенами. Отдельные положения этой теории явились плодотворными рабочими гипотезами, экспериментальная проверка которых привела к новым открытиям. Предсказанное Эрлихом существование рецепторов клеток, специфически

Д.И. Ивановский
(1864–1920)

взаимодействующих с определенными группами антигенов, в течение многих лет подвергалось уничтожающей критике. Однако она была возрождена во второй половине XX столетия в теории Бернета и на молекулярном уровне получила всеобщее признание.

И.И. Мечников одним из первых понял, что гуморальная и фагоцитарная теории иммунитета не являются взаимоисключающими, а только дополняют друг друга. В 1908 г. Мечникову и Эрлиху совместно была присуждена Нобелевская премия за работы в области иммунологии.

В заключение следует отметить, что конец XIX в. ознаменовался эпохальным открытием царства Vira. Первым представителем этого царства явился вирус табачной мозаики, поражающий листья табака, открытый в 1892 г. сотрудником кафедры ботаники Петербургского университета Д.И. Ивановским, вторым — вирус ящура, вызывающий одноименное заболевание у домашних животных, открытый в 1898 г. Ф. Леффлером и П. Фрошем. Однако эти открытия не могли быть в то время по достоинству оценены и остались едва замеченными на фоне блестящих успехов бактериологии.

1.3. РАЗВИТИЕ МИКРОБИОЛОГИИ В ПЕРВОЙ ПОЛОВИНЕ XX В.

Бурное развитие микробиологии и иммунологии в последние десятилетия XIX в. закончилось к началу XX в. Это объясняется неравномерностью развития естественных наук, когда одна из них намного обгоняет другие. Так случилось с микробиологией и иммунологией, дальнейшее развитие которых тормозилось отставанием биохимии, генетики, биофизики.

Основные цели и задачи, которые встали перед микробиологией в этот период, заключались в дальнейшем изучении болезнетворных микроорганизмов, открытии новых возбудителей, особенно вирусов, а также средств борьбы с вызываемыми ими инфекционными заболеваниями и усовершенствовании методов их диагностики.

В первые десятилетия текущего столетия продолжалось выделение и изучение возбудителей инфекционных болезней, вызывающих возвратный тиф, лептоспироз, сифилис и др. В данный период американским микробиологом Риккетсом и независимо от него Э. Роха-Лимой и С. Провацеком была открыта новая группа микроорганизмов, получившая впоследствии название риккетсий (возбудители сыпного тифа и других лихорадок). Позднее были открыты хламидии, вызывающие трахому, орнитозы; болезнетворные простейшие возбудители токсоплазмоза.

Особый интерес представили открытия фильтрующихся агентов, размеры которых были значительно меньше размеров бактерий и простейших, что позволяло им проходить через фильтры, задерживающие другие микроорганизмы. Поэтому они получили название фильтрующихся вирусов.

После открытия вируса табачной мозаики и вируса ящура в 1901 г. был выделен первый фильтрующийся вирус, вызывающий желтую лихорадку у человека. Затем были описаны подобные агенты, вызывающие полиомиелит, ветряную оспу, грипп, паротит и другие заболевания человека.

Таким образом, в течение двух десятилетий были описаны необычные возбудители инфекционных заболеваний растений, животных и человека. Они были названы фильтрующимися вирусами (лат. *virus* — яд). Точнее, были открыты не сами вирусы, а инфекционное начало, содержащееся в фильтрате материалов, взятых для исследования. Впоследствии, когда оказалось, что фильтруемость присуща не только вирусам, но и некоторым формам бактерий (L-формы) и микоплазмам, их просто стали называть вирусами. Следует особо отметить открытие П. Раусом в 1911 г. онкогенного вируса, вызывающего саркому у кур, и д'Эррелем в 1917 г. бактериофага — вируса, поражающего бактерий.

Однако в этот период развитие вирусологии происходило медленными темпами. Это было связано с отсутствием электронного микроскопа, что делало вирусы невидимыми, почти гипотетическими агентами, а также использующихся ныне химических и физических методов исследования, необходимых для изучения их структуры, химического состава и других признаков. Вместе с тем неспособность вирусов расти аналогично бактериям на искусственных питательных средах чрезвычайно затрудняла их выделение и изучение. Единственным методом до 1933 г. было культивирование вируса в организме восприимчивых животных, т.е. заражение лабораторных животных с целью воспроизведения экспериментальной инфекции. В 1933 г. положение несколько облегчилось после открытия А. Вудраффом и Э. Гудпасчером способности вируса гриппа размножаться внутри куриного эмбриона. Позднее было

доказано, что куриные эмбрионы можно использовать для накопления многих других вирусов.

В 1944 г. в Институте им. Листера М. Итоном и др. был выделен возбудитель атипичной пневмонии, являющийся первым представителем нового класса микроорганизмов — микоплазм.

Классические работы Пастера по вакцинопрофилактике сибирской язвы и бешенства стимулировали поиски новых вакцин. Французскими ветеринарными врачами Ш. Кальметом и К. Гереном была получена вакцина из туберкулезной палочки, названная БЦЖ (BCG — первые буквы фамилий этих ученых), которая до сих пор используется для вакцинации детей против туберкулеза.

В 20-х годах Г. Рамоном были созданы анатоксины (токсины, обезвреженные формалином) для профилактики дифтерии и столбняка.

Кроме того, продолжались исследования по серологической диагностике инфекционных заболеваний, основанные на выявлении антител в сыворотке крови больных и переболевших людей. Так были разработаны серологические реакции для диагностики сифилиса (реакция Вассермана), брюшного тифа и паратифов (реакция Видаля), сыпного тифа (реакция Вейля — Феликса).

Вместе с тем применение лечебных сывороток, содержащих антитела к возбудителям заболеваний или их токсинам, нередко сопровождалось тяжелыми осложнениями и даже смертельным исходом. Французские ученые *Ш. Рише* и *П. Портье* (1902) показали, что причиной подобных осложнений является чужеродный сывороточный белок, поскольку лечебные сыворотки приготавливались путем иммунизации лошадей или других животных. Так было положено начало изучению иммунопатологических реакций организма (аллергия и др.), которое продолжается и в настоящее время.

В первой половине XX столетия произошло и другое важное событие в истории микробиологии и медицины — становление и развитие химиотерапии. Основоположник этого направления — П. Эрлих.

Химиотерапевтические идеи Эрлиха, соответствующие его иммунологическим воззрениям, получили свое выражение в концепции «большой стерилизующей терапии». Они заключались в создании химических соединений («волшебных пуль»), которые, избирательно фиксируясь на рецепторах микробной клетки, оказывают угнетающее действие только на нее, не затрагивая при этом клеток организма. Эрлихом было установлено губительное действие ряда красителей, в частности трипанового красного, на трипаносом, который не повреждал при этом клетки макроорганизма.

Следующей мишенью химического нападения был избран возбудитель сифилиса — бледная трепонема, которая по своим свойствам напоминала трипаносомы. При этом Эрлих в качестве «волшебной пули»

избрал не красители, а производное мышьяка — атоксил, который наряду с трипаноцидным действием обладал токсическими свойствами. Эрлих с сотрудниками синтезировали и испытали на зараженных сифилисом кроликах свыше 600 производных атоксила. Лучший из них, сальварсан (препарат № 606) уничтожал трепонем в организме кроликов, не оказывая на животных токсического действия. Через несколько лет была получена более стабильная и легкорастворимая форма сальварсана — неосальварсан (препарат № 914). Синтез этих противосифилитических препаратов явился триумфом химиотерапии.

В начале 30-х годов был синтезирован противомалярийный препарат — плазмахин, заменяющий естественный алкалоид хинин, который позднее под названием плазмоцид был получен в СССР. В 1932 г. в Германии, а затем в СССР был синтезирован второй заменитель хинина — атебрин (акрихин). В те же годы в Германии Г. Домакгом был получен первый антибактериальный препарат, действующий на стрептококки, гонококки и некоторые другие бактерии. Он представлял собой производное сульфаниламида, связанное с красителем. Вскоре было показано, что его антибактериальная активность обусловлена сульфаниламидом, а не красителем. Очищенный препарат был выпущен в продажу под названием белого стрептоцида. В 1937 г. советскими химиками И.И. Постовским и Л.Н. Гульдеревым и независимо от них Эваном и Филипсом было синтезировано другое производное сульфаниламида — сульфидин, который действовал на пневмококки и другие бактерии. В последующие годы было получено огромное количество сульфамиламидов, из которых практическое применение нашли немногие. Это объясняется довольно узким антибактериальным спектром этих препаратов, формированием резистентных к ним бактерий и другими причинами.

После начала Второй мировой войны потребовались новые лечебные препараты, прежде всего для борьбы с гнойными раневыми инфекциями. Еще в 1928 г. английский микробиолог А. Флеминг обратил внимание на отсутствие роста стафилококков вокруг колоний зеленой плесени — гриба рода Penicillium. Однако выделить продуцируемое этим грибом антибактериальное вещество, названное Флемингом пенициллином, ему не удалось. Только в 1940 г. английскими исследователями Г. Флори и Э. Чейном была получена стабильная форма пенициллина (в виде его соли). Огромный успех, сопутствующий клиническому применению пенициллина при гнойных инфекциях и сепсисе, стимулировал проведение широких исследований, направленных на поиски новых антибактериальных веществ, выделяемых грибами. Эти вещества, по предложению американского микробиолога Э. Ваксмана, были названы антибиотиками. В 1944 г. Ваксман с сотрудниками получили новый антибиотик из актиноми-

цетов, который они назвали стрептомицином. Он обладал высокой антибактериальной активностью в отношении многих бактерий, в том числе туберкулезной палочки.

В 1943 г. производство пенициллина было налажено в США. В конце Великой Отечественной войны пенициллин начал производиться в нашей стране под руководством З.В. Ермольевой. Сенсационными успехами химиотерапии заканчивается первая половина XX в.

1.4. РАЗВИТИЕ МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ ВО ВТОРОЙ ПОЛОВИНЕ XX В. (СОВРЕМЕННЫЙ ПЕРИОД)

Конец 40-х и начало 50-годов характеризуется начавшейся научно-технической революцией. Выход проводившихся исследований на молекулярный уровень стимулировал бурное развитие микробиологии, вирусологии, иммунологии и других естественных наук. В 1944 г. американские ученые О. Эвери, К. Мак-Леод и К. Мак-Карти представили экспериментальные данные, свидетельствующие о роли ДНК в передаче наследственных признаков у пневмококков. Таким образом, были получены первые доказательства, что материальной основой наследственности является ДНК. Окончательный переворот в сознании генетиков, микробиологов и других специалистов произошел в 1953 г., когда аспирант Д. Уотсон и научный сотрудник биохимик Ф. Крик в Кембриджском университете раскрыли структуру ДНК.

Особое внимание микробиологов в эти годы привлекли к себе работы по генетике бактерий (Кавалли-Сфорца, Б. Хейс, Л. Ледерберг). Открытие обособленных фрагментов ДНК — плазмид, а позднее других внехромосомных факторов наследственности — транспозонов и Is-последовательностей, было качественно новым этапом развития генетики микроорганизмов. В течение 60–70-х годов было доказано, что плазмиды существенно влияют на болезнетворные свойства микроорганизмов, их резистентность к химиотерапевтическим препаратам и на другие признаки.

Вместе с тем универсальность генетического кода позволила установить с помощью бактерий и вирусов общие молекулярно-генетические закономерности, свойственные всем живым организмам.

Молекулярная генетика открыла перед учеными фантастические перспективы, связанные с возможностью искусственного создания генов, манипулирования с известными генами путем пересаживания их от человека в микробные клетки. Уже в 60–70-х годах произошло становление генной инженерии, которая внесла принципиально но-

вые идеи и методы в биотехнологию промышленного производства биологически активных веществ (гормонов, ферментов, интерферона, вакцин и др.).

Развитие исследований в области молекулярной вирусологии связано с именем *Г. Френкель-Конрата* (1955), который показал, что молекулы белка вируса табачной мозаики спонтанно объединяются друг с другом, образуя упорядоченные структуры, характерные для вирусной оболочки. В 1959 г. А. Коренберг и М. Гулиан, используя фаговую ДНК в качестве матрицы, наблюдали синтез дочерней ДНК при добавлении в раствор азотистых оснований, соответствующих ферментов и других необходимых соединений. Таким образом, была получена искусственная вирусная ДНК, которая обладала теми же свойствами, что и естественная.

Особое значение имеют работы французского ученого *А. Львова* (1953), в которых была показана способность фаговой ДНК встраиваться в бактериальный геном и реплицироваться в его составе. Позднее были получены прямые доказательства интеграции вирусных нуклеиновых кислот в хромосомы клеток человека и животных.

Огромную роль в развитии вирусологии сыграли работы, доказавшие возможность синтеза ДНК на матрице РНК в присутствии специального фермента обратной транскриптазы.

Значительным событием в вирусологии явилось выделение *Р. Галло* в 1982 г. Т-лимфотропного вируса, вызывающего лейкоз, а в 1983 г. Л. Монтенье и независимо от него Галло — сходного с ним вируса иммунодефицита человека, вызывающего СПИД.

Переоценка классических понятий в области иммунологии также началась во второй половине текущего столетия. Ее прежде всего можно связать с формированием учения об иммунной системе. Оно позволило создать иммунологическую концепцию, объединяющую инфекционные и неинфекционные разделы иммунологии, поскольку лимфоциты — иммунокомпетентные клетки — способны реагировать как на антигены инфекционных агентов (бактерии, вирусы и др.), так и на антигены любого другого происхождения.

Дальнейшее изучение лимфоидных клеток показало существование двух их разновидностей — Т-лимфоцитов (тимусзависимых) и В-лимфоцитов (не зависимых от тимуса), которые в целом обеспечивают эффективный иммунный ответ.

Далее была установлена иммуноглобулиновая природа рецепторов В-лимфоцитов и позднее — более сложных рецепторов Т-лимфоцитов. Таким образом, удалось расшифровать механизмы специфического распознавания антигенов клетками иммунной системы человека и животных.

П. Медаваром и независимо от него М. Гашеком (1952) было показано, что утрата определенных клонов лимфоидных клеток к соб-

ственным белкам (антигенам) организма является причиной иммунологической толерантности.

В 1959–1961 гг. *Р. Портером* и *Д. Эдельманом* была расшифрована структура антител, что послужило основой для открытия разных классов иммуноглобулинов, отличающихся друг от друга химической структурой и функциональными свойствами.

М.Ф. Бернет (1899–1985)

Р. Гутом (1963) впервые было показано, что некоторые врожденные заболевания детей связаны с дефектами их иммунной системы. Эти работы стимулировали дальнейшее изучение иммунопатологии, т.е. раздела иммунологии, посвященного болезням иммунной системы организма человека. К современным достижениям иммунологии следует отнести развитие иммунобиотехнологии. Стимулом к проведению работ в этом направлении послужило создание *Д. Келером* и *Ц. Мильстайном* (1965) гибридов. Получаемые при этом гибридные линии клеток продуцируют моноклональные антитела заданной специфичности, которые могут применяться с диагностической и лечебно-профилактической целями.

Одним из наиболее крупных достижений современной иммунологии является клонально-селекционная теория иммунитета, впервые сформулированная *М.Ф. Бернетом* в 1957 г. и окончательно доказанная в 80-х годах. В ней возрождено положение Эрлиха о предсуществовании в организме, но уже не антител или их рецепторов, а генов, контролирующих образование последних. Теория Бернета объясняет не только возможность образования антител ко всем существующим антигенам, но и явления иммунологической памяти и иммунологической толерантности.

Многие из проделанных в современный период работ получили всемирное признание и были удостоены Нобелевских премий.

1.5. РАЗВИТИЕ МИКРОБИОЛОГИИ В РОССИИ

К одним из первых «охотников за микробами» в России относится русский ботаник *Л.С. Ценковский* (1822–1887), который организовал в руководимой им лаборатории производство сибиреязвенной вакцины, а в 1883 г. успешно использовал ее для вакцинации скота.

Существенный вклад в изучение сибирской язвы у человека, чумы и проказы внес *Г.Н. Минх* (1836–1896). Его имя получило широкую известность после проведенного им опыта самозаражения, доказавшего, что спирохета возвратного тифа, обнаруженная Обермейером в крови больных, действительно является возбудителем данного заболевания.

О.О. Мочутковский (1845–1903) в одном из опытов самозаражения ввел себе кровь больной сыпным тифом и заболел, доказав тем самым, что возбудитель заболевания присутствует в крови больного.

Широкую известность получили работы *Ф.А. Леша* (1840–1903), в которых было показано, что дизентерию могут вызывать простейшие, принадлежащие к амебам.

Большое значение в развитии отечественной микробиологии сыграла общественная и научная деятельность *И.И. Мечникова*, создателя фагоцитарной теории иммунитета. В 1892 г. он опубликовал свой труд «Лекции по сравнительной патологии воспаления», в котором как выдающийся мыслитель рассмотрел патологические процессы с позиций эволюционной теории. В 1901 г. появляется его новая книга «Невосприимчивость к инфекционным болезням», в которой подведены итоги многолетних исследований в области иммунитета.

Введение в России прививок против сибирской язвы открыло дорогу вакцинации против бешенства. При содействии Луи Пастера в Одессе была открыта в 1886 г. первая бактериологическая, Пастеровская, станция, заведовать которой был приглашен И.И. Мечников, а его помощниками стали Н.Ф. Гамалея и Л.В. Бардах.

В 1887 г. в Харькове была открыта вторая Пастеровская станция. В 90-х годах в России уже существовал ряд бактериологических школ.

Главным центром Петербургской бактериологической школы стал Институт экспериментальной медицины. Заведующим бактериологическим отделом был утвержден С.Н. Виноградский, получивший мировую известность своими работами в области общей микробиологии. С помощью разработанного им метода элективных культур Виноградский открыл серо- и железобактерии, нитрифицирующие бактерии — возбудители процесса нитрификации в почве.

В этом отделе одной из лабораторий заведовал *Д.К. Заболотный* (1866–1929), работы которого по микробиологии и эпидемиологии чумы, холеры, брюшного тифа и экспериментального сифилиса получили широкую известность. В 1898 г. он организовал и в течение 30 лет руководил первой в России самостоятельной кафедрой микробиологии при Женском медицинском институте (ныне С.-Петербургский Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова).

Д.К. Заболотным были установлены пути передачи чумы от грызунов, роль тарбаганов как носителей возбудителя, природная очаго-

Н.Ф. Гамалея
(1859–1949)

Л.А. Зильбер
(1894–1966)

вость чумы. Эти работы положили начало развитию отечественной эпидемиологии.

В состав Института экспериментальной медицины входила чумная лаборатория, созданная в 1898 г. на одном из фортов, вблизи Кронштадта. Она стала российским центром исследований по чуме. Здесь готовили противочумную сыворотку и вакцину, а также противохолерную сыворотку. В 1903 г. в Петербурге было учреждено Русское микробиологическое общество.

Главой московской бактериологической школы и одним из лидеров российских бактериологов был *Г.Н. Габричевский* (1860–1907), который в 1895 г. возглавлял открытый на частные средства Бактериологический институт при Московском университете. Он работал в области специфического лечения и профилактики скарлатины, возвратного тифа. Его стрептококковая теория происхождения скарлатины в конечном итоге завоевала всеобщее признание. Габричевский является автором «Руководства к клинической бактериологии для врачей и студентов» (1893) и учебника «Медицинская бактериология», который выдержал четыре издания.

Московскую школу представляли М.Н. Берестнов (изучение возбудителя актиномикоза), В.И. Кедровский (получение культуры возбудителя проказы на искусственной питательной среде), Е.И. Марциновский (установление природы кожного лейшманиоза), *П.В. Циклинская* (1859–1923) — первая женщина-бактериолог (работы по микрофлоре кишечного тракта взрослых и детей).

А.А. Смородинцев
(1901–1986)

В.Д. Тимаков
(1905–1977)

В конце XIX — начале XX в. бактериологические школы были сформированы в Одессе, Харькове, Казани и Киеве.

Выдающийся русский микробиолог *Н.Ф. Гамалея* (1859–1949), который еще в 1886 г. работал у Пастера по бешенству, совместно с Мечниковым и Бардахом основал первую в России бактериологическую станцию, где изготавливалась антирабическая вакцина и проводилась вакцинация людей против бешенства.

Н.Ф. Гамалея — автор многих научных работ, посвященных бешенству, холере и другим проблемам микробиологии и иммунологии.

После революции, гражданской войны в работу по восстановлению сети микробиологических лабораторий и научно-исследовательских институтов активно включались многие ученые-микробиологи: к ним относятся уже упоминавшиеся выше Н.Ф. Гамалея, Д.С. Заболотный, И.Г. Савченко, Я.И. Марциновский, Л.А. Тарасевич и др.

Еще в предвоенные годы, во время Великой Отечественной войны и в первые послевоенные годы отечественные ученые-микробиологи создали вакцины для специфической профилактики клещевого энцефалита (А.А. Смородинцев и др.), сыпного тифа (А.В. Пшеничнов, Б.М. Райхер), туляремии (Б.Я. Эльберт, Н.А. Гайский), чумы (М.М. Файбич), сибирской язвы (Н.Н. Гинсбург, А.Л. Тамарин), смешанную вакцину против брюшного тифа, паратифов, холеры и столбняка — поливакцина НИИСИ и др.

В трудные годы Великой Отечественной войны санитарно-эпидемиологическая служба, в состав которой входили бактериологичес-

кие лаборатории, проделала огромнейшую работу по предотвращению эпидемий различных инфекционных заболеваний.

В 50–70-е годы *А.А. Смородинцевым* с сотрудниками были получены вакцины для профилактики гриппа, кори, краснухи, паротита и совместно с М.П. Чумаковым — живая вакцина против полиомиелита.

Многие отечественные ученые — *В.А. Барыкин, И.Л. Кричевский, Л.А. Зильбер, П.Ф. Здродовский, В.Д. Тимаков, З.В. Ермольева, А.А. Смородинцев, В.И. Иоффе, В.М. Жданов* и др. — внесли существенный вклад в развитие микробиологии, вирусологии и иммунологии.

Следует отметить уникальный вклад, внесенный ленинградскими медиками в годы блокады Ленинграда (1941–1943 гг.), когда они сумели предотвратить возникновение эпидемических заболеваний, особенно кишечных инфекций, в голодающем городе. Это М.А. Рапопорт, М.Н. Фишер, Э.М. Новгородская, Н.К. Токаревич и многие другие.

При медицинских институтах, переименованных сейчас в академии и университеты, работают кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, где наряду с учебной проводится научно-исследовательская работа по разным проблемам медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии.

ГЛАВА 2
СИСТЕМАТИКА И НОМЕНКЛАТУРА МИКРООРГАНИЗМОВ

Мир микроорганизмов чрезвычайно многообразен. Его представителей объединяют только их незначительные размеры, требующие микроскопических методов исследования. А. Левенгук в XVII в. отметил возможность дифференцировки микроорганизмов на основании морфологических признаков. Значительно позднее были предприняты попытки классифицировать и систематизировать микроорганизмы с целью распределения их по группам (таксонам) на основании определенных морфологических и физиологических признаков.

В соответствии с общебиологическими понятиями о виде как основной таксономической единице в микробиологии **вид определяют как эволюционно сложившуюся совокупность особей, имеющих единый тип организации, который в стандартных условиях проявляется сходными фенотипическими признаками:** морфологическими, физиологическими, биохимическими и др. Однако генетические механизмы, лежащие в основе изменчивости микроорганизмов, обеспечивают только относительную стабильность перечисленных признаков, которые в пределах одного и того же вида могут варьировать. Отсюда сложившиеся понятия о вариантах (варах) микроорганизмов, отличающиеся отдельными признаками от стандартных видов. Так, различают морфовары, биовары, ферментовары, резистенсвары, фаговары, серовары, эковары и патовары, которые отличаются по морфологическим, биологическим, ферментативным признакам, резистентностью к антибиотикам и фагам, экологическим нишам и патогенностью соответственно.

Виды, связанные генетическим родством, объединяют в роды, роды — в семейства. Высшими таксономическими категориями являются царства и подцарства.

Согласно современной систематике, патогенные (болезнетворные) бактерии относятся к надцарству прокариотов (Procaryotae), царству эукариотов (Eucaryotae), грибы — к царству микота (Mycota), простейшие — к царству Protozoa, вирусы — к царству Vira (схема 2.1).

В основе современной систематики микроорганизмов лежат фенотипические признаки: морфологические, физиологические, биохими-

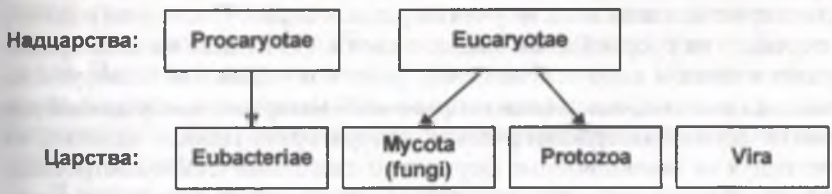


Схема 2.1. Систематика патогенных микроорганизмов

ческие. Морфологические характеризуют форму и структуру микробной клетки; физиологические — особенности роста микроорганизма на искусственных питательных средах в определенных условиях культивирования (температура, pH и др.), а также морфологию колоний на твердых средах и характер роста на жидкой среде; биохимические — тип окислительного и пластического метаболизма, ферментацию углеводов, протеолитические и другие признаки.

В настоящее время используют ряд таксономических систем: нумерическая таксономия, хемотаксономия, генетическая и серологическая таксономии.

Нумерическая таксономия признает равноценность всех фенотипических признаков. Для ее применения необходимо иметь информацию о многих десятках признаков. Видовая принадлежность исследуемого микроорганизма устанавливается по числу совпадающих признаков. Расчеты проводят с помощью компьютера. Трудности получения информации о многочисленных признаках исследуемого микроорганизма ограничивает возможность применения нумерической таксономии.

Для ***хемотаксономии*** применяют физико-химические и биохимические методы: газовожидкостная хроматография, электрофорез и другие, с помощью которых исследуют липидный, аминокислотный состав (протеиновые профили) микробной клетки и ее компонентов, например, клеточной стенки.

Генотаксономия основана на генетических признаках, которые устанавливаются в опытах трансформации, трансдукции и конъюгации, а также анализе внехромосомных факторов наследственности — плазмид, транспозонов и фагов (*см. 6.2*).

Серотаксономия основана на определении соответствующих антигенов, содержащихся в бактериальной клетке (*см. главу 13*) с помощью диагностических сывороток. Данный метод особенно часто применяется в медицинской микробиологии.

Для определения родовой и видовой принадлежности бактерий используют справочник «Определитель бактерий Берджи», первое издание которого было опубликовано в 1923 г. После смерти Д. Берджи

справочник неоднократно переиздавался коллективом авторов, в число которых входили многие ученые разных стран. Последнее издание в переводе на русский язык вышло в свет в 1997 г. Как во всех предыдущих изданиях в его основе лежит фенотипическая или полифункциональная система, содержащая справочный материал, необходимый для практических бактериологических лабораторий. Данное издание, не претендуя на эволюционные формально-таксономические построения, видимо, завершает период систематики бактерий на основании фенотипических тестов и вряд ли сохранит свое значение в XXI столетии.

Показано, что определение филогенетического положения прокариотов, т.е. их родовой и видовой принадлежности, должно проводиться по нуклеотидным последовательностям 16-рРНК исследуемых бактерий. Усовершенствованная методика секвенирования и обработки данных привела к получению идентичных результатов в различных лабораториях многих стран, что свидетельствует об их объективности. Видовая принадлежность бактерий оценивается при этом по степени гомологии ДНК–ДНК, т.е. ДНК исследуемого микроорганизма с эталонной.

Таким образом, на смену классическим микробиологическим тестам, разработанным еще в эпоху Р. Коха, пришли молекулярно-биологические и генетические методы, из которых генетические зонды, цепная полимеразная реакция (ЦПР) и др. нашли широкое применение в настоящее время для диагностики многих инфекционных заболеваний (*см. 4.5*).

Надцарство прокариотов, царство зубактерий в справочнике Берджи разделены на 33 группы, отличающиеся друг от друга по морфологии, окраске по Граму, спорообразованию, типу дыхания и некоторым другим признакам. Патогенные и условно-патогенные бактерии относятся к 18 группам. Некоторые группы подразделены на подгруппы и семейства. Каждая группа, подгруппа, семейство включает многочисленные роды. В главе 20 «Медицинская бактериология» все рассмотренные бактерии расположены по группам, семействам и родам, согласно последнему изданию определителя Берджи.

Для названия микроорганизмов используется биноминальная номенклатура К. Линнея, согласно которой первое слово обозначает род, второе — вид. Обычно название рода дается по фамилии автора, открывшего или описавшего данный микроорганизм, либо по его принадлежности к определенной морфологической группе. Например, Vibrio, Streptococcus, Shygella, Neisseria. Видовое название связано с наименованием заболевания, либо с источником обитания, например C. diphteriae, V. cholerae, E. coli.

В микробиологии широко применяются специальные термины: штамм, клон, чистая культура. **Штаммом называют культуру, выделенную из определенного источника, или из одного и того же**

источника в разное время. Обычно штаммы обозначают либо протокольными номерами, либо по источнику выделения (человек, животное, внешняя среда), либо по местности (городу), где он был выделен. Например, вирусы гриппа Гонконг, Сингапур. Штамм — более узкое понятие, чем вид. Штаммы одного и того же вида могут быть идентичными или различаться по некоторым признакам, не выходящим за пределы вида.

Клоном называют культуру микроорганизма, выделенную из одной клетки (одноклеточная культура).

Чистая культура представляет собой микробные особи одного и того же вида, выращенные из изолированной колонии, выращенной на твердой питательной среде.

В практических бактериологических лабораториях принадлежность выделенной бактериальной культуры к определенному виду (идентификация культуры) проводится по фенотипическим признакам: морфологическим, тинкториальным (отношение к красителям, особенно к окраске по Граму), культуральным, биохимическим (ферментация углеводов, образование индола, сероводорода и других соединений), антигенным в серологических реакциях in vitro.

Вопросы для самоконтроля

1. Дайте определение виду, различным разновидностям микробных клеток (биовар и др.), штамму и клону.

2. Какие признаки лежат в основе современной таксономии микроорганизмов? Дайте характеристику каждому из них.

3. Какие таксономические системы используются в систематике бактерий?

ГЛАВА 3

МОРФОЛОГИЯ, УЛЬТРАСТРУКТУРА И ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МИКРООРГАНИЗМОВ (БАКТЕРИЙ)

В настоящее время установлены принципиальные различия в организации и функционировании клеток прокариот и эукариот. Прежде всего, они заключаются в отсутствии у прокариот мембран, с помощью которых органеллы микробной клетки (ядро, митохондрии, рибосомы и др.) отграничены от цитоплазмы. Система мембран у прокариот представлена только цитоплазматической мембраной, отделяющей цитоплазму от клеточной оболочки или непосредственно от внешней среды. Вследствие этого при электронно-микроскопическом исследовании срезов клеток прокариот цитоплазма имеет вид мелкозернистой массы с включениями рибонуклеопротеиновых молекул, не организованных в эндоплазматическую сеть, но выполняющих рибосомальные функции.

Ядро у прокариот, которое часто называют нуклеоидом, имеет фибриальную структуру и не отграничено от цитоплазмы ядерной мембраной. В клетках прокариот отсутствуют митохондрии, хлоропласты, пластинчатый комплекс Гольджи. Окислительно-восстановительные ферменты локализованы в производных образованиях цитоплазматической мембраны — мезосомах.

У прокариот отсутствует митоз. Они размножаются путем бинарного деления и существуют в гаплоидном состоянии, вследствие чего диплоидность эукариот, имеющая огромное значение в их эволюции, не играет никакой роли в эволюции прокариот. У прокариот отсутствует также клеточный центр. Для них нетипичны внутриклеточные перемещения цитоплазмы и амебовидное движение.

3.1. БАКТЕРИИ

3.1.1. Морфология

По форме клеток собственно бактерии подразделяются на шаровидные, палочковидные и извитые (рис. 3.1).

Ш а р о в и д н ы е б а к т е р и и — кокки (*coccus* — зерно) имеют правильную сферическую или эллипсовидную форму. Одни

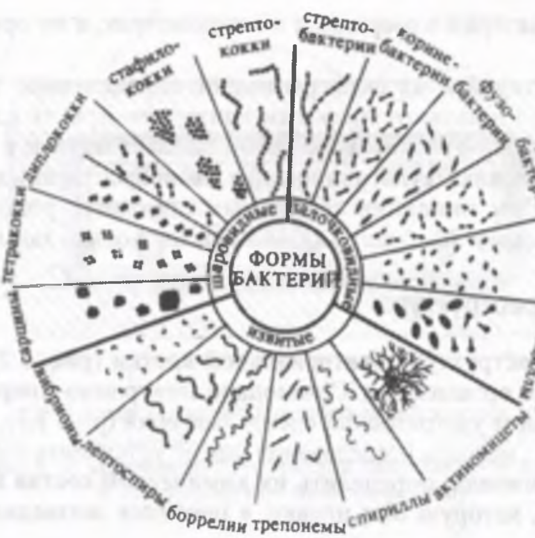


Рис. 3.1. Формы бактерий (схематическое изображение)

из них располагаются беспорядочно (микрококки), другие парами (диплококки), третьи — цепочками из трех и более кокков (стрептококки), четвертые — в виде пакетов, состоящих из четырех (тетракокки) или восьми (сарцины) кокков. Это связано с особенностями их деления. В том случае, если они делятся в разных плоскостях, то образуются скопления, напоминающие виноградную гроздь (стафилококки). Деление в двух взаимоперпендикулярных плоскостях приводит к образованию тетракокков, в трех — сарцин. При делении в одной плоскости дочерние клетки могут не отходить друг от друга, образуя диплококки и цепочки кокков — стрептококки.

Патогенные бактерии чаще всего представлены стафилококками, стрептококками, реже микрококками.

П а л о ч к о в и д н ы е б а к т е р и и, имеющие цилиндрическую форму, различаются по размерам, форме клеток и их концов, а также по расположению. Большинство из них имеют длину, превышающую поперечник. Другие представляют собой крупные палочки с утолщениями на концах либо с обрубленными или заостренными концами. Они могут беспорядочно располагаться в виде одиночных клеток, парами — диплобактерии, в виде цепочек — стрептобактерии. Патогенные виды относятся ко всем перечисленным формам палочковидных бактерий.

И з в и т ы е ф о р м ы б а к т е р и й представлены изогнутыми палочками, изгибы которых имеют один (холерный вибрион) или несколько оборотов (кампилобактерии) спирали.

Размеры бактерий измеряются в микрометрах, а их органеллы — в нанометрах[1] .

Форма бактерий и их размеры имеют определенное таксономическое значение и являются важным критерием при их идентификации, поскольку это относительно стабильные признаки в строго определенных условиях культивирования на искусственных питательных средах. При описании отдельных семейств, родов и видов бактерий (*см. главу 20*) будет указана как их форма, так и размеры.

3.1.2. Ультраструктура

Ультраструктура бактериальной клетки (рис. 3.2) отражает уникальность ее организации. С помощью электронно-микроскопического исследования ультратонких срезов бактерий (рис. 3.3), цитохимических и других методов исследования можно установить структуру определенных органелл, определить их химический состав и функциональную роль, которую они играют в процессе жизнедеятельности клетки.

Бактериальная клетка окружена внешней оболочкой (рис. 3.2), которая состоит из капсулы, капсулоподобной оболочки и клеточной стенки. От их состава зависит способность клетки воспринимать анилиновые красители (тинкториальные свойства). К а п с у л ы в зависимости от степени выраженности подразделяют на микро- и макрокапсулы. Первые обнаруживаются только при электронно-микроскопическом исследовании в виде микрофибрилл из мукополисахаридов, которые тесно прилегают к клеточной стенке. Макрокапсулы представляют собой выраженный слизистый слой, снаружи покрывающий клеточную стенку. Он состоит из полисахаридов и редко из полипептидов (например, у сибиреязвенных бактерий). Как правило, макрокапсулу образуют немногие виды патогенных бактерий (пневмококки и др.) при неблагоприятных условиях среды, например в организме животных или человека. Однако у некоторых видов (клебсиеллы пневмонии) макрокапсула обнаруживается постоянно.

К а п с у л о п о д о б н а я о б о л о ч к а — липидо-полисахаридное образование, сравнительно непрочно связанное с поверхностью клетки, вследствие чего в отличие от капсулы может выделяться в окружающую среду.

Капсула или капсулоподобная оболочка может быть покрыта экзополисахаридами, которые образуются из углеводов окружающей среды под действием бактериальных ферментов. При этом глюканы и леваны обеспечивают прилипание бактерий к разным поверхнос-

* 1мм = 1000 мкм, 1мкм = 1000 нм.

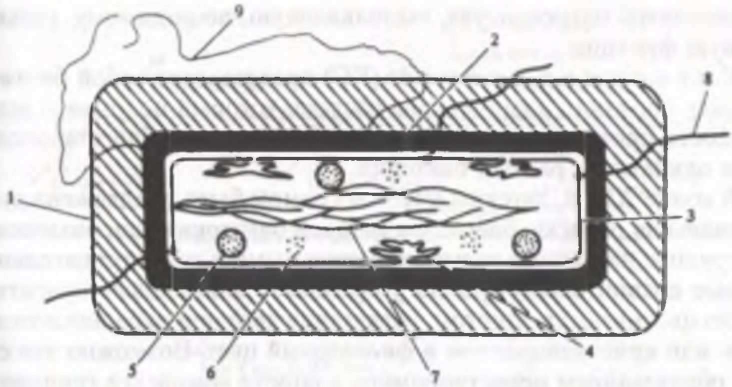


Рис. 3.2. Ультраструктура бактериальной клетки (схема):
1— капсула; 2 — клеточная стенка; 3 — цитоплазматическая мембрана; 4 — мезосомы; 5 — включения; 6 — гранулы рибосом; 7 — нуклеоид (ДНК); 8 — жгутик; 9 — пили (ворсинки)

Рис. 3.3. Стафилококк. Электронная микроскопия. Ультратонкий срез. Ув. 80 000:
Н — нуклеоид; М — мезосома; ЦМ — цитопламатическая мембрана; КС — клеточная стенка

тям, часто гладким. Так, некоторые стрептококки прилипают к эмали зубов, сердечным клапанам.

Капсула несет многообразные функции: защитную, предохраняя клетку от неблагоприятных условий среды обитания, и адгезивную, способствуя «прилипанию» к поверхности (рецепторам) клетки хозяина. У некоторых бактерий с ними связаны *патогенные* (*см. 10.1*) и *антигенные* (*см. 13.3*) свойства. Непатогенные бактерии также могут

образовывать макрокапсулу, выполняющую, по-видимому, только защитную функцию.

Клеточная стенка (КС) представляет собой биогетерополимер сложного химического состава, который покрывает всю поверхность прокариотической клетки. Состав этого биогетерополимера не одинаков у разных бактерий.

В конце XIX в. датским ученым Грамом была предложена дифференциальная окраска, благодаря которой бактерии были разделены на две группы, названные грамположительными и грамотрицательными. Первые сравнительно прочно удерживают анилиновые красители и не обесцвечиваются спиртом, вследствие чего они окрашиваются генциан- или кристалвиолетом в фиолетовый цвет. Возможно это связано с образованием нерастворимого в спирте комплекса генциан-виолета с йодом. Грамотрицательные бактерии после обесцвечивания спиртом докрашиваются водным раствором фуксина в розовый цвет.

Основу клеточной стенки всех бактерий составляет пептидогликан, обеспечивающий ригидность и эластичность КС. Структура пептидогликана представлена параллельными полисахаридными (гликановыми) цепями, состоящими из чередующихся звеньев N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты (рис. 3.4). С каждым остатком данной кислоты ковалентно связан тетрапептид, в состав которого входят четыре разные аминокислоты, в том числе лизин, либо диаминопимелиновая кислота (ДПК), встречающаяся только у бактерий. Каждая из упомянутых аминокислот имеет аминогруппы, образующие пептидные связи. При этом пептиды грамположительных бактерий связаны через пептидный мостик из 5 остатков глицина. У грамотрицательных бактерий ацетилмурановые кислоты в каждой гликановой цепи связаны через 2 однотипных тетрапептида.

У грамположительных бактерий пептидогликан связан с тейхоевыми и липотейхоевыми кислотами за счет чего он имеет многослойную структуру. Тейхоевые кислоты являются производными рибитола или глицерина. Они пронизывают пептидогликан насквозь или находятся на его поверхности. Липотейхоевые кислоты имеют такое же строение, но закреплены в цитоплазматической мембране. Они также пронизывают пептидогликан или располагаются между ним и мембраной. С пептидогликаном могут быть связаны белки, которые располагаются снаружи. Например, белок *А* у стафилококков, белок *М* у стрептококков.

Все компоненты клеточной стенки грамположительных бактерий могут синтезироваться в избытке, и в этом случае они секретируются в окружающую среду.

У грамотрицательных бактерий пептидогликан однослоен и покрыт *наружной мембраной* с мозаичным строением. В ее состав входит липопротеид, образующий глобулярный слой в результате кова-

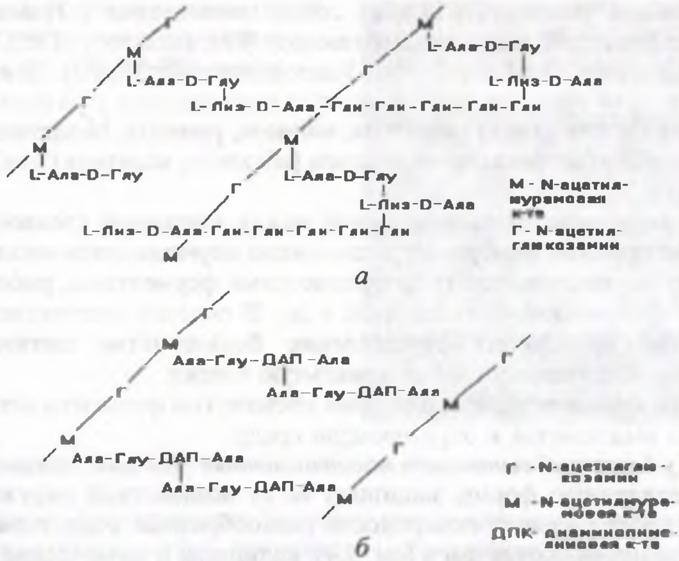


Рис. 3.4. Структура пептидогликана:
а — грамположительные бактерии (стафилококки);
б — грамотрицательные бактерии (кишечная палочка)

лентной связи с пептидогликаном. Он покрыт пластинчатой мембраноподобной структурой, состоящей из фосфолипидов, липополисахарида (ЛПС) и белков. Наружная мембрана пронизана белками-пориами — своеобразными выводными каналами, которые обеспечивают диффузию химических веществ из внешней среды в микробную клетку.

Особое значение имеет ЛПС, содержащийся в значительном количестве в составе КС грамотрицательных бактерий. В структуре ЛПС имеется три звена: основное (базисное), к одному концу которого присоединен липид (второе звено), а к противоположному — повторяющиеся звенья сахаров (третье звено), составляющих детерминантную группу (схема 3.1).

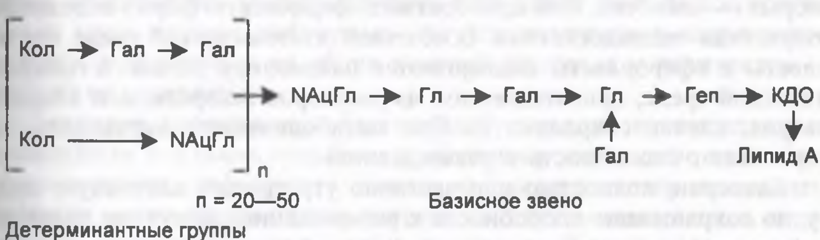


Схема 3.1

Базисное звено представляет собой полисахарид у грамотрицательных бактерий, включающий глюкозу (Гл), галактозу (Гал), N-ацетилглюкозамин (Ац-Гл) и 2-кето-3-дезоксиоктонат (КДО). Повторяющиеся звенья детерминантной группы неодинаковы у разных видов бактерий. В них входят галактоза, манноза, рамноза, N-ацетилглюкозамин и редко встречающиеся сахара [абеквоза, колитоза (Кол), тивелоза и др.].

У грамотрицательных бактерий между клеточной стенкой и цитоплазматической мембраной расположено **периплазматическое пространство**, заполненное гидролитическими ферментами, рибонуклеазой 1, фосфатазой, β-лактамазой и др. В периплазматическом пространстве происходит расщепление большинства питательных веществ, поступающих в бактериальную клетку.

У грамположительных бактерий упомянутые ферменты непосредственно выделяются в окружающую среду.

КС у бактерий выполняет многочисленные функции: придает клетке определенную форму, защищает ее от воздействий окружающей среды, несет на своей поверхности разнообразные рецепторы, к которым прикрепляются фаги (*см. 5.4*), колицины и химические соединения. Через КС в клетку поступают питательные вещества и выделяются продукты обмена. Функциональное значение пептидогликана состоит в том, что он придает КС ригидность и эластичность. С ним связаны антигены у грамположительных бактерий.

ЛПС обладает антигенными и токсическими свойствами, поэтому его часто называют эндотоксином (*см. 10.1.2*).

Вместе с тем пептидогликан является «мишенью» для действия некоторых антибиотиков, главным образом пенициллинов, и фермента лизоцима, хотя они обладают разным механизмом действия. Пенициллин нарушает образование тетрапептидных связей, лизоцим разрушает гликозидные связи между мурамовой кислотой и ацетилглюкозамином. При действии пенициллина на растущую бактериальную культуру образуются безоболочечные формы бактерий, лишенные клеточной стенки. Их называют протопластами, сферопластами и L-формами. Первые полностью лишены КС, вторые — частично. Они приобретают сферическую форму вследствие отсутствия пептидогликана. В обычной изотонической среде протопласты и сферопласты подвергаются плазмолизу. Только в гипертонической среде, приготовленной из растворов сахарозы или хлорида натрия, клетки сохраняют слабую метаболическую активность, но утрачивают способность к размножению

Бактерии, полностью или частично утратившие клеточную стенку, но сохранившие способность к размножению, получили название L-форм в честь института им. Д. Листера (Англия), в котором они были впервые выделены. Независимо от формы исходной клетки (кок-

Рис 3.5. Жгутики и пили у E.coli. Электронная микроскопия. Ув. 80 000

ки, палочки) L-формы этих бактерий морфологически неразличимы. Они представляют собой сферические образования разных размеров. L-формы могут возникать в естественных условиях в организме человека в результате длительного лечения некоторыми антибиотиками, чаще всего пенициллином.

Различают нестабильные и стабильные L-формы бактерий. Первые способны к реверсии в исходный вид при устранении причины, вызвавшей их образование. Они восстанавливают способность синтезировать пептидогликан клеточной стенки. Вторые, как правило, не способны к реверсии. L-формы разных бактерий играют существенную роль в патогенезе многих инфекционных заболеваний.

Ж г у т и к и. На поверхности ряда бактериальных клеток располагаются жгутики (рис. 3.5). В их состав входит белок флагелин, который по своей структуре относится к сократимым белкам типа миозина. Жгутики прикрепляются к базальному телу, состоящему из системы нескольких дисков, вмонтированных в цитоплазматическую мембрану и КС. Количество и расположение жгутиков у разных бактерий неодинаково. Монотрихи имеют на одном из полюсов клетки только один жгутик, лофотрихи — пучок жгутиков, у амфитрихов жгутики расположены на обоих полюсах клетки, а у перитрихов — по всей ее поверхности.

Активная подвижность бактерий обусловлена вращательными движениями жгутиков, подобно корабельному винту, либо пропеллеру (монотрихи, лофотрихи). Наряду с беспорядочным движением бактерии могут передвигаться направленно путем хемотаксиса, аэротаксиса, обусловленного разной концентрацией кислорода, и фототаксиса. Скорость движения бактерий связана с расположением жгу-

тиков, составом и свойствами питательной среды. Жгутики обладают антигенными свойствами.

Пили (*pili*, синоним ворсинки, фимбрии) — тонкие полые нити белковой природы длиной 0,3–10 мкм, толщиной 10 нм, покрывающие поверхность бактериальных клеток. В отличие от жгутиков не выполняют локомоторную функцию. По своему функциональному назначению подразделяются на несколько типов.

Пили 1 общего типа обусловливают прикрепление или адгезию бактерий к определенным клеткам организма хозяина. Их количество велико — от нескольких сотен до нескольких тысяч на одну бактериальную клетку. Адгезия является первоначальной стадией любого инфекционного процесса (*см. 10.1.1*).

Пили 2 типа (синоним: конъюгативные, или половые, пили — *sex pili*) участвуют в конъюгации бактерий (*см. 6.8.3*), обеспечивающей перенос части генетического материала от донорной клетки к реципиентной. Они имеются только у бактерий-доноров в ограниченном количестве (1–4 на клетку).

Цитоплазматическая мембрана (ЦМ) является жизненно необходимым структурным компонентом бактериальной клетки. Она ограничивает протопласт, располагаясь непосредственно под клеточной стенкой. ЦМ в химическом отношении представляет собой липопротеин, состоящий из 15–30% липидов и 50–70% протеинов. Кроме того, в ней содержится около 2–5% углеводов и незначительное количество РНК. В состав мембранных липидов входят главным образом нейтральные липиды и фосфолипиды. У некоторых бактерий встречаются гликолипиды, а у микоплазм — стеролы.

Липидный состав мембран непостоянен в качественном и количественном отношении. У одного и того же вида бактерий он изменяется в зависимости от условий ее культивирования на питательной среде и возраста культуры. Разные виды бактерий отличаются друг от друга по липидному составу своих мембран.

Мембранные белки разделяются на структурные и функциональные. К последним относятся ферменты, участвующие в биосинтезе разных компонентов КС, который происходит на поверхности ЦМ, а также окислительно-восстановительные ферменты, пермеазы и др.

ЦМ является сложно организованной структурой, состоящей из трех слоев, которые выявляются при электронно-микроскопическом исследовании. Двойной фосфолипидный слой пронизан глобулинами, которые обеспечивают транспорт веществ в бактериальную клетку.

ЦМ выполняют жизненно важные функции, нарушение которых приводит бактериальную клетку к гибели. К ним относится прежде всего регуляция поступления в клетку метаболитов и ионов, участие

в метаболизме, репликации ДНК, а у ряда бактерий в спорообразовании и т.д.

Мезосомы являются производными ЦМ. Они имеют неодинаковое строение у разных бактерий, располагаясь в разных частях клетки либо в виде концентрических мембран, либо пузырьков, трубочек, либо в форме петли, характерной в основном для грамотрицательных бактерий. Мезосомы связаны с нуклеоидом. Они участвуют в делении клетки и спорообразовании.

Цитоплазма у прокариот, так же как и у эукариот, представляет собой сложную коллоидную систему, состоящую из воды (около 75%), минеральных соединений, белков, РНК и ДНК, которые входят в состав органелл нуклеоида, рибосом, мезосом, включений.

Нуклеоид (см. рис. 3.2, 3.3) является эквивалентом ядра эукариот, хотя отличается от него по своей структуре и химическому составу. Он лишен ядерной мембраны, не содержит хромосом, не делится митозом. В составе нуклеоида отсутствуют основные белки — гистоны. Исключение составляют только некоторые бактерии. В нем содержится двунитевая молекула ДНК, а также небольшое количество РНК и белков. Молекула ДНК с молекулярной массой (2–3) $\times 10^9$ представляет собой замкнутую кольцевую структуру, в которой закодирована вся наследственная информация клетки, т.е. геном клетки. По аналогии с хромосомами эукариот бактериальная ДНК часто обозначается как хромосома. При этом следует помнить, что она представлена в клетке в единственном числе, поскольку бактерии являются гаплоидными. Однако перед делением клетки число нуклеоидов удваивается, а во время деления увеличивается до 4 и более.

Наряду с нуклеоидом в цитоплазме могут находиться автономные кольцевые молекулы двунитевой ДНК с меньшей молекулярной массой, которые получили название плазмид (*см. 6.2.1*). В них также закодирована наследственная информация. Однако она не является жизненно необходимой для бактериальной клетки.

Рибосомы у бактерий представляют собой рибонуклеопротеиновые частицы размером 20 нм, состоящие из двух субъединиц 30S и 50S. Перед началом синтеза белка происходит объединение этих субъединиц в одну — 70S. В отличие от клеток эукариотов рибосомы бактерий не объединены в эндоплазматическую сеть. Бактериальные рибосомы, являющиеся белоксинтезирующими системами клеток, могут стать «мишенью» для действия многих антибиотиков.

Включения являются продуктами метаболизма про- и эукариотических микроорганизмов, которые располагаются в их цитоплазме и используются в качестве запасных питательных веществ. К ним относятся включения гликогена, крахмала, серы, полифосфата (волютина) и др. У некоторых бактерий, например дифтерийной па-

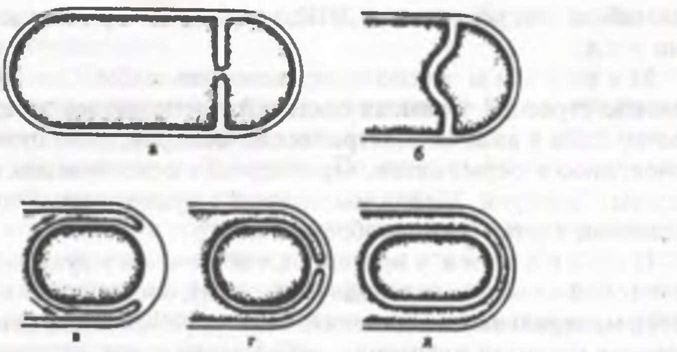


Рис. 3.6. Спорообразование у бактерий (схема):
_а, б_ — образование перегородки; _в, г_ — окружение протопласта споры протопластом материнской клетки; _д_ — образование кортекса и оболочек споры

лочки, включения волютина имеют дифференциально-диагностическое значение. Они обладают способностью к метахромазии (окрашиваются в иной цвет, чем цвет красителя).

Споры и спорообразование. Споры бактерий можно рассматривать как форму сохранения наследственной информации бактериальной клетки в неблагоприятных условиях внешней среды. Способностью к спорообразованию обладает сравнительно небольшое число как патогенных, так и непатогенных бактерий. К первым относятся бактерии родов Bacillus, Clostridium, ко вторым — сапрофитные представители упомянутых родов и некоторые кокки.

Процесс спорообразования (рис. 3.6, 3.7) начинается с формирования спорогенной зоны внутри бактериальной клетки, представляющей собой уплотненный участок цитоплазмы с расположенным в нем нуклеоидом. Затем происходит образование проспоры путем изолирования спорогенной зоны от остальной части цитоплазмы с помощью врастающей внутрь клетки ЦМ. Между внутренним и наружным слоями последней образуется кортекс, состоящий из особого пептидогликана. В дальнейшем внешняя сторона мембраны покрывается плотной оболочкой, в состав которой входят белки, липиды и другие соединения, не встречающиеся у вегетативных клеток. К ним относится дипиколиновая кислота, обусловливающая термоустойчивость споры, и др. Затем вегетативная часть клетки отмирает, и спора сохраняется во внешней среде в течение длительных сроков, измеряемых многими месяцами и годами.

Способность ряда патогенных бактерий образовывать длительно сохраняющиеся во внешней среде споры, обладающие высокой термоустойчивостью, обусловлена низким содержанием воды, повышен-

Рис 3.7. Клостридии столбняка. Формирование споры. Электронная микроскопия

ной концентрацией кальция, структурой и химическим составом ее оболочки.

Чрезвычайно высокая устойчивость спор к физическим и химическим факторам имеет существенное эпидемиологическое значение, поскольку способствует сохранению источника инфекции и загрязнению окружающей среды.

Споры многих патогенных бактерий выдерживают кратковременное кипячение, устойчивы к действию небольших концентраций дезинфектантов. Загрязнение спорами патогенных бактерий поврежденных участков кожи может привести к возникновению раневой инфекции и столбняка.

В благоприятных условиях спора прорастает в вегетативную клетку. Спора набухает, что связано с увеличением в ней количества воды, активированием ферментов, участвующих в энергетическом и пластическом метаболизме. Далее происходит разрушение оболочки споры и выход из нее ростовой трубки, после чего завершается синтез клеточной стенки и сформировавшаяся вегетативная клетка начинает делиться. Прорастание споры происходит в течение 4–5 ч, в то время как образование спор продолжается до 18–20 ч.

Вместе с тем способность бактерий образовывать споры, различающиеся по форме размерам и локализации в клетке, является таксономическим признаком, который используется для их дифференцировки и идентификации.

3.2. СПИРОХЕТЫ

Спирохеты (*spira* — виток, *chaite* — волосы) (см. рис. 3.1) представляют собой тонкие спирально извитые нити, изогнутые вокруг центральной оси, которая, по-видимому, является пучком слившихся фибрилл. Патогенные виды относятся к трем родам: Treponema, Borrelia, Leptospira, отличающимся друг от друга структурным особенностями, количеством завитков, типом движения и другими признаками. В структурном отношении клетки спирохет представляют

Рис. 3.8. Бледная трепонема. Электронная микроскопия. Ультратонкий срез. Ув. 131 000:
ч — чехол; б — блефаропласт; Ф — фибриллы

собой цитоплазматические цилиндры, отграниченные цитоплазматической мембраной (ЦМ) от тонкой и эластичной клеточной стенки (КС), которая состоит из наружной мембраны и пептидогликанового слоя. Между ЦМ и цитоплазматическим цилиндром спирохет расположены фибриллы, состоящие, так же как и жгутики бактерий, из белка флагеллина. У трепонем (рис. 3.8) и боррелий имеется два пучка фибрилл, прикрепленных к дисковидным образованиям — блефаропластам, расположенным на обоих концах цилиндра и направленных навстречу друг другу. У лептоспир единичные фибриллы прикреплены на концах клетки к блефаропластам. Фибриллы обеспечивают разные типы движения спирохет: поступательное, вращательное и сгибательное.

Спирохеты, особенно трепонемы, в отличие от других бактерий плохо воспринимают анилиновые красители. Их, так же как простейших, окрашивают краской Романовского–Гимза.

Кроме того, для выявления спирохет используют нативные препараты, которые микроскопируют в темнопольном или фазово-контрастном микроскопе (рис. 20.52).

3.3. АКТИНОМИЦЕТЫ

Актиномицеты (*actis* — луч, *myces* — гриб) — лучистые грибы, относятся к роду Actinomyces. Они представляют собой нитевидные ветвистые клетки, напоминающие мицелий грибов или в результате фрагментации мицелия имеющие вид палочек.

Ультраструктура актиномицетов принципиально не отличается от бактерий. Они имеют клеточную стенку, цитоплазматическую мембрану, которая отграничивает цитоплазму, где содержится нуклеоид,

рибосомы, внутриклеточные включения. Мезосомы актиномицетов также являются производными цитоплазматической мембраны. Однако в составе пептидогликана некоторых актиномицетов обнаружены арабиноза, галактоза и др., отсутствующие у бактерий сахара.

Подавляющее большинство актиномицетов являются свободноживущими сапрофитными микроорганизмами. Патогенные виды встречаются среди представителей родов Actinomyces и Nocardia. Первые имеют вид длинных или коротких разветвленных палочек, не образующих воздушного мицелия. Они являются возбудителями актиномикоза человека. В организме человека или животных актиномицеты формируют так называемые друзы, являющиеся своеобразными скоплениями мицелия. Представители рода Nocardia напоминают микобактерии (*см. 20.3.3*), но отличаются от них нитевидной формой клеток, образующих на питательных средах субстратный и воздушный мицелий. Они вызывают нокардиоз.

Некоторые стрептомицеты вызывают у человека кожные мицетомы.

Многие актиномицеты, средой обитания которых являются почва, образуют антибиотики, широко применяющиеся в медицинской практике.

Актиномицеты выявляют так же, как бактерии в мазках, окрашенных простыми методами либо по методу Грама.

3.4. РИККЕТСИИ

Риккетсии — прокариотические микроорганизмы, названные в честь американского микробиолога Г. Риккетса, погибшего в результате лабораторного заражения сыпным тифом. Риккетсии относятся к нескольким родам. Они представляют собой мелкие (0,3–0,6 × 0,4–2 мкм) полиморфные бактерии, имеющие кокковидную, палочковидную или нитевидную форму. Клеточная стенка построена по типу грамотрицательных бактерий (рис. 3.9). Риккетсии являются облигатными внутриклеточными паразитами. Многие виды патогенны для людей, вызывая острые лихорадочные заболевания — риккетсиозы.

Рис. 3.9. Риккетсии Провацека. Электронная микроскопия. Ультратонкий срез. Ув. 100 000:
МКС — мембрана клеточной стенки; ЦМ — цитоплазматическая мембрана; Н — нуклеоид

Риккетсии выявляют в мазках, окрашенных по методу Здродовского, и при электронной микроскопии.

3.5. ХЛАМИДИИ

Хламидии представляют собой мелкие бактериоподобные неподвижные бескапсульные грамотрицательные бактерии. Они относятся к роду Chlamidia, включающему патогенные для человека внутриклеточные паразиты. Вне клеток хозяина хламидии существуют в виде элементарных телец сферической формы размерами 0,3 мкм (рис. 3.10), В клетке хозяина они превращаются в ретикулярные тельца, которые начинают делиться. В результате деления в клетке образуются внутрицитоплазматические включения — микроколонии хламидий, содержащие промежуточные формы их развития. Покидая клетку, они превращаются в элементарные тельца. Цикл развития хламидий продолжается в течение 40–72 ч.

Хламидии выявляют в мазках, окрашенных краской Романовского–Гимза, а также при электронной микроскопии.

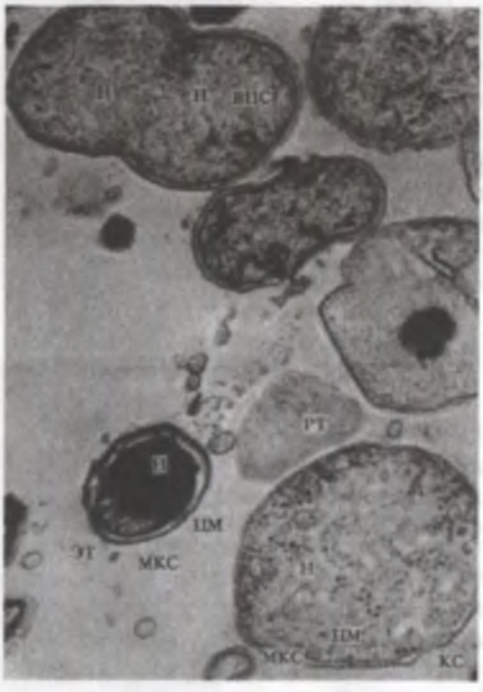


Рис. 3.10. Хламидии. Электронная микроскопия. Ув. 100 000:
ЭТ — элементарное тельце; РТ — ретикулярное тельце; МКС — мембрана клеточной стенки; ЦМ — цитоплазматическая мембрана; Н — нуклеоид; ВЦС — внутрицитоплазматические структуры; КС — клеточная стенка

3.6. МИКОПЛАЗМЫ И УРЕАПЛАЗМЫ

Микоплазмы и уреаплазмы — бактерии, утратившие клеточную стенку в процессе эволюции. Они выделены в два рода: Mycoplasma и Ureaplasma, отличающиеся друг от друга по биохимическим признакам. Важнейшим из них является способность уреаплазм вызывать гидролиз мочевины.

Они представляют собой мелкие сферические или овоидные клетки диаметром 0,2 мкм. Наряду с ними встречаются крупные шаровидные клетки, достигающие в диаметре 1,5 мкм, и нитевидные ветвящиеся клетки длиной до 150 мкм. Их характерной особенностью является отсутствие клеточной стенки.

Клетки микоплазм и уреаплазм окружены мембраной, покрытой снаружи капсулоподобным слоем.

У некоторых видов внешний слой мембраны имеет большую толщину (рис. 3.11).

Микоплазмы неподвижны, не образуют спор. Наряду с непатогенными существуют патогенные виды, вызывающие различные заболевания у людей.

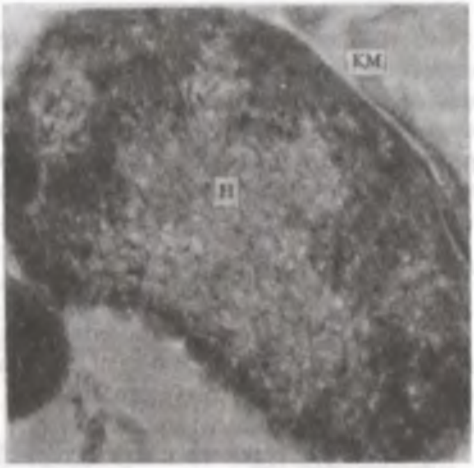


Рис.3.11. Микоплазма. Электронная микроскопия. Ультратонкий срез. Ув. 100 000:
Н — нуклеоид; КМ — клеточная мембрана

Вопросы для самоконтроля

1. Каковы основные различия в ультраструктуре клеток прокариотических и эукариотических микроорганизмов?

2. Какова структура, химический состав и функции жгутиков, капсул, клеточной стенки, цитоплазматической мембраны бактериальных клеток?

3. Отметьте особенности строения нуклеоида, рибосом и мезосом у бактерий.

4. В чем состоит процесс спорообразования у бактерий? Каковы особенности химического состава бактериальных спор и их значение в эволюции бактерий?

5. Каковы особенности хламидий, микоплазм и риккетсий?

6. Какие компоненты клеточной стенки присущи грмположительным бактериям?

7. Какие компоненты клеточной стенки имеются только у грамотрицательных бактерий?

ГЛАВА 4
ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ (БАКТЕРИЙ)

Физиологические и биохимические особенности микроорганизмов положены в основу их систематики. Они важны для изучения механизмов патогенного действия, культивирования, дифференцировки и идентификации отдельных микроорганизмов, а также для разработки биотехнологии производства вакцин, антибиотиков и других биологически активных продуктов.

4.1. МЕТАБОЛИЗМ

Как известно, метаболизм представляет собой совокупность двух противоположных, но взаимосвязанных процессов — катаболизма, или энергетического метаболизма, и анаболизма, или пластического (конструктивного) метаболизма.

У прокариот, так же как у эукариот, в процессе ферментативных катаболических реакций происходит выделение энергии, которая аккумулируется в молекулах АТФ. В процессе ферментативных анаболических реакций эта энергия расходуется на синтез многочисленных макромолекул органических соединений, из которых в конечном итоге монтируются биополимеры — составные части микробной клетки. Взаимосвязь анаболизма и катаболизма выражается также в том, что на определенных этапах метаболизма образуются одинаковые промежуточные продукты (амфиболиты), которые используются в обоих процессах.

4.1.1. Исходные соединения для анаболических и катаболических реакций. Питание

Метаболизм микроорганизмов характеризуется ярко выраженным разнообразием. В качестве питательных веществ микробные клетки используют различные органические и минеральные соединения.

Источники углерода и типы питания. Все микроорганизмы по своей способности усваивать разнообразные источники углерода делятся на две группы — автотрофы и гетеротрофы. А в т о т р о ф ы (лат. *autos* — сам, *trophe* — питание) синтезируют все углеродсодержащие компоненты клетки из CO_2 как единственного источника углерода. Г е т е р о т р о ф ы (лат. *heteros* — другой, «питающийся за счет других») не могут существовать только за счет ассимиляции CO_2. Они используют разнообразные органические углеродсодержащие соединения — гексозы (глюкоза), многоатомные спирты, реже углеводороды. Многие микроорганизмы в качестве источника углерода используют аминокислоты, органические кислоты и другие соединения.

Источники энергии и доноры электронов. В зависимости от источников энергии и природы доноров электронов микроорганизмы подразделяют на ф о т о т р о ф ы (фотосинтезирующие), способные использовать солнечную энергию, и х е м о т р о ф ы (хемосинтезирующие), получающие энергию за счет окислительно-восстановительных реакций. К фототрофам относятся исключительно сапрофитные микроорганизмы. В патологии человека ведущую роль играют хемосинтезирующие микроорганизмы.

В зависимости от природы доноров электронов хемотрофы подразделяются на х е м о л и т о т р о ф ы (хемоавтотрофы) и х е м о о р г а н о т р о ф ы (хемогетеротрофы) (схема 4.1).

Тип питания:	хемолитотрофы (хемоавтотрофы)	хемоорганотрофы (хемогетеротрофы)
Источник энергии:	окислительно-восстановительные реакции	
Источник С:	неорганические соединения	органические соединения
Доноры e^-:	H_2, H_2S, CH_3, Fe^{2+} и др.	органические соединения
Тип экологической связи:	сапрофиты	сапрофиты и паразиты

С х е м а 4.1. Классификация хемосинтезирующих микроорганизмов по источникам энергии и углерода, донорам электронов, типам питания и экологическим связям

Источник азота. Для синтеза азотсодержащих соединений (аминокислот, пуринов, пиримидинов, некоторых витаминов) микроорганизмы нуждаются в доступном источнике азота. Одни из них способны усваивать молекулярный азот из атмосферы (азотфиксирующие бактерии) или неорганический азот из солей аммония, нитратов или нитритов. Другие ассимилируют только азотсодержащие органические соединения.

Микроорганизмы, способные синтезировать все необходимые им органические соединения (углеводы, аминокислоты и др.) из глюкозы и солей аммония, называются прототрофами. В отличие от них микроорганизмы, не способные синтезировать какое-либо из указанных соединений, называют ауксотрофами. Они ассимилируют эти соединения и другие факторы роста в готовом виде из окружающей среды или организма хозяина (человека, животного). Ауксотрофами чаще всего являются патогенные или условно-патогенные для человека микроорганизмы.

Кроме азота и углерода всем микроорганизмам для биосинтетических реакций необходимы соединения, содержащие фосфор, серу, а также ионы Mg, K, Ca, Fe и другие микроэлементы.

4.1.2. Факторы роста

К факторам роста относят аминокислоты, пуриновые и пиримидиновые основания, липиды, витамины, железопорфирины (гем) и другие соединения. Некоторые микроорганизмы самостоятельно синтезируют необходимые им ростовые факторы, другие получают их в готовом виде из окружающей среды.

Потребность того или другого микроорганизма в определенных ростовых факторах является стабильным признаком, который используется для дифференциации и идентификации бактерий, а также при изготовлении питательных сред для лабораторных и биотехнологических целей.

Аминокислоты. Многие микроорганизмы, особенно бактерии, нуждаются в тех или других аминокислотах (одной или нескольких), поскольку они не могут их самостоятельно синтезировать, например клостридии — в лейцине, тирозине, стрептококки — в лейцине, аргинине и др. Такого рода микроорганизмы называются ауксотрофными по тем аминокислотам или другим соединениям, которые они не способны синтезировать.

Пуриновые и пиримидиновые основания и их производные (аденин, гуанин, цитозин, урацил, тимин и др.) являются факторами роста для разных видов стрептококков, некоторые азотистые основания нужны для роста стафилококков и других бактерий. В нуклеотидах нуждаются некоторые виды микоплазм.

Липиды, в частности компоненты фосфолипидов — жирные кислоты, нужны для роста некоторых стрептококков, микоплазм. Все виды микоплазм ауксотрофны по холестерину и другим стеринам, что отличает их от других прокариот. Эти соединения входят в состав их цитоплазматической мембраны.

Витамины, главным образом группы В, входят в состав коферментов или их простетических групп. Многие бактерии ауксотрофны по определенным витаминам. Например, коринебактерии дифтерии, шигеллы нуждаются в никотиновой кислоте или ее амиде, который входит в состав НАД и НАДФ, золотистый стафилококк, пневмококк, бруцеллы — тиамине (B_1), входящем в состав пирофосфата, некоторые виды стрептококков, бациллы столбняка — в пантотеновой кислоте, являющейся составной частью кофермента КоА и т.д. Кроме того, факторами роста для многих бактерий являются фолиевая кислота, биотин, а также гемы — компоненты цитохромов. Последние необходимы гемофильным бактериям, микобактериям туберкулеза и др.

4.1.3. Транспорт питательных веществ

В бактериальную клетку

Микроорганизмы ассимилируют питательные вещества в виде небольших молекул, поэтому белки, полисахариды и другие биополимеры могут служить им источниками питания только после расщепления экзоферментами до более простых соединений.

Метаболиты и различные ионы проникают в микробную клетку тремя путями:

1) Пассивная диффузия. Протекает без энергетических затрат, по градиенту концентрации. Таким путем в клетку поступают H_2O, O_2, CO_2, N_2.

2) Облегченная диффузия. Не требует энергетических затрат. Протекает при участии мембранных белков-транслоказ.

3) Активный транспорт. Протекает с энергетическими затратами против градиента концентрации: а) при участии специальных белков-пермеаз. При этом каждая пермеаза переносит в клетку определенное соединение, б) при участии мембранных белков-транслоказ и фосфорилировании переносимой молекулы в процессе ее прохождения через мембрану. Таким путем переносится глюкоза.

Из бактериальной клетки

Синтезируемые в бактериальных клетках соединения выходят из них тремя путями:

1) Фосфотрансферазная реакция. Происходит при фосфорилировании переносимой молекулы.

2) Контрансляционная секреция. В этом случае синтезируемые молекулы должны иметь особую лидирующую последовательность аминокислот, чтобы прикрепиться к мембране и сформировать канал, через который молекулы белка смогут выйти в окружающую среду. Таким образом выходят из клетки соответствующих бактерий токсины столбняка, дифтерии и другие молекулы.

3) Почкование мембраны. Молекулы, образующиеся в клетке, окружаются мембранным пузырьком, который отшнуровывается в окружающую среду.

4.1.4. Ферменты

Микроорганизмы синтезируют разнообразные ферменты, которые принадлежат ко всем шести известным классам: оксидоредуктазам, трансферазам, лиазам, гидролазам, изомеразам и лигазам. Ферментный состав любого микроорганизма определяется его геномом и является достаточно стабильным признаком. Поэтому определение сахаролитических, протеолитических и других ферментов, образуемых определенными видами и даже вариантами бактерий, широко применяется для их идентификации. Вместе с тем ряд ферментов (нейраминидаза, гиалуронидаза, коагулаза и др.) способствуют проявлению патогенных свойств у возбудителей некоторых инфекционных заболеваний, поскольку субстратом их действия являются вещества, входящие в состав клеток и тканей организма человека (*см. 2.2.2*).

Одни ферменты микроорганизмов локализуются в их цитоплазме, цитоплазматической мембране и периплазматическом пространстве, другие, например гидролазы, выделяются в окружающую среду. На этом основано деление ферментов на экзо- и эндоферменты. Функциональное назначение экзоферментов связано с расщеплением макромолекул в окружающей среде до более простых соединений, которые затем транспортируются в микробную клетку. Некоторые ферменты, локализованные в цитоплазме, функционируют независимо друг от друга, другие тесно связаны между собой, обеспечивая протекание метаболических реакций в определенной последовательности. Внутриклеточные ферменты, объединенные структурно и функционально, составляют мультиферментные комплексы, например ферменты дыхательной цепи, локализованные на цитоплазматической мембране.

Ферменты, которые постоянно синтезируются в микробных клетках в определенных концентрациях, называют конститутивными. К ним относятся ферменты гликолиза. Ферменты, концентрация которых резко возрастает в зависимости от наличия соответствующего субстрата, называют индуцибельными («индукция субстратом»). К ним относятся ферменты транспорта и катабо-

лизма лактозы — галактозидпермеаза, β-галактозидаза и галактозидацетилтрансфераза, β-лактамаза — фермент, разрушающий пенициллин. В отсутствие субстрата они находятся в бактериальной клетке в следовых концентрациях, а при наличии соответствующего индуктора их количество резко возрастает.

Функциональная активность ферментов и скорость ферментативных реакций зависят от условий, в которых находится данный микроорганизм и прежде всего от температуры среды и ее pH. Для многих патогенных микроорганизмов оптимальными являются температура 37°C и pH 7,2–7,4.

4.1.5. Пластический (конструктивный) метаболизм

Синтез исходных продуктов происходит в цитоплазме бактериальных клеток. Затем они переносятся на наружную поверхность цитоплазматической мембраны, где начинается морфогенез, т.е. процесс образования определенных клеточных структур (капсула, клеточная стенка и др.) при участии ферментов.

Биосинтез углеводов. Микроорганизмы синтезируют моно-, олиго-, полисахариды и другие соединения, в состав которых входят углеводы. Автотрофы синтезируют глюкозу из CO_2. При этом CO_2 является исходным продуктом для образования рибулозо-1,5-фосфата-3-фосфорноглицериновой кислоты в цикле Кальвина (схема 4.2). Гетеротрофы синтезируют глюкозу из углеродсодержащих соедине-

С х е м а 4.2. Биосинтез углеводов у микроорганизмов

ний с длиной цепи C_2 — C_3. В обоих случаях используются в основном реакции гликолиза, идущие в обратном направлении.

В клетках прокариот, так же как и эукариот, широко развита способность к взаимопревращениям сахаров, которые происходят за счет их нуклеозиддифосфопроизводных. Олиго- и полисахариды синтезируются путем присоединения остатков сахаров от нуклеозиддисахаров к акцепторной молекуле.

Биосинтез аминокислот. Большинство прокариот способны синтезировать все аминокислоты из пирувата, образующегося в гликолитическом цикле, из α-кетоглутарата и фумарата, образующихся в цикле трикарбоновых кислот (ЦТК). Источниками энергии являются молекулы АТФ. При образовании аминокислот азот вводится в молекулу предшественника на последних этапах биосинтеза при помощи реакций аминирования и переаминирования (схема 4.3).

Переход неорганического азота в органический происходит через ионы аммония, которые включаются в состав органических соединений. Только несколько аминокислот (L-аланин, аспартат и L-глутамат) образуются путем прямого аминирования, остальные — путем переаминирования.

Вместе с тем многие прокариоты, так же как эукариоты, могут получать аминокислоты из молекул белка, которые предварительно расщепляются ими с помощью протеаз и пептидаз. Образовавшиеся олигопептиды и аминокислоты переносятся в микробные клетки, где включаются в метаболические пути биосинтеза или подвергаются дальнейшему расщеплению

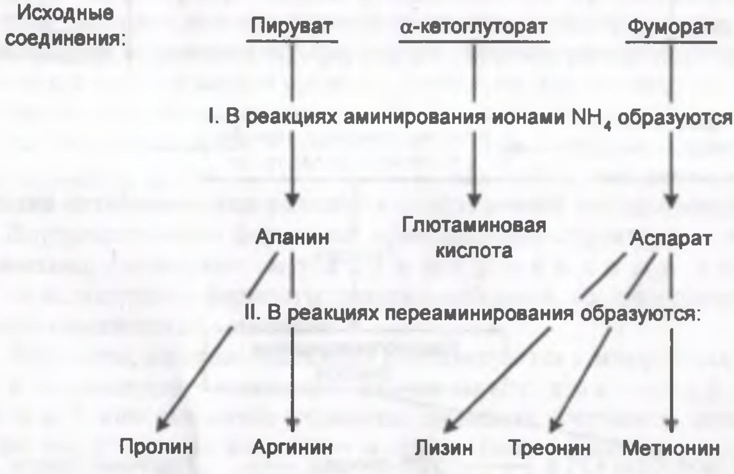


Схема 4.3. Биосинтез аминокислот у прокариот

Ауксотрофные по некоторым аминокислотам прокариоты (ряд патогенных бактерий, микоплазмы, спирохеты) потребляют их в готовом виде в организме хозяина.

Хламидии и риккетсии, являющиеся облигатными внутриклеточными паразитами, имеют редуцированные метаболические пути. Однако они синтезируют ферменты, участвующие в утилизации готовых продуктов. Риккетсии также синтезируют часть аминокислот, которые затем включаются в белок, остальные потребляются ими из клетки хозяина.

Биосинтез липидов. Липиды микроорганизмов представлены жирными кислотами, фосфолипидами, воском, терпенами, каротиноидами, которые содержат длинноцепочечные насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты.

Важную роль в биосинтезе жирных кислот у микроорганизмов играют так называемые ацетилпереносящие белки. В ходе биосинтеза к ним присоединяются ацильные фрагменты с образованием тиоэфиров. Последовательное удлинение этих фрагментов приводит в конечном счете к образованию высших жирных кислот, содержащих обычно 16–18 углеродных атомов. Некоторые бактерии синтезируют жирные кислоты, содержащие до 24–30 атомов углерода.

Многие микроорганизмы синтезируют ненасыщенные жирные кислоты с двойными связями, которые формируются из соответствующих насыщенных кислот. У аэробов этот процесс требует присутствия кислорода.

Микоплазмы, ауксотрофные по жирным кислотам, получают их в готовом виде из клеток хозяина или питательной среды.

Центральную роль в биосинтезе фосфолипидов играет цитидинфосфатглицерид, являющийся непосредственным предшественником фосфатидилглицерина, фосфатидилинозина и фосфатидилглицерофосфата. Остальные фосфолипиды образуются путем ферментативных превращений этих соединений.

4.1.6. Ионный обмен

Для роста и размножения бактерий необходимы минеральные соединения — ионы NH_4^+, K^+, Mg^{2+} и др. Ионы аммония используются некоторыми бактериями для синтеза аминокислот, ионы калия — для связывания тРНК с рибосомами. Благодаря значительной внутриклеточной концентрации ионов калия в бактериях поддерживается высокое осмотическое давление. Ионы железа, магния выполняют роль кофактора в ряде ферментативных процессов. Они входят в состав цитохромов и других гемопротеидов. Для ряда патогенных и условно-патогенных бактерий (эшерихии, шигеллы и др.) потребление железа в организме хозяина затруднено из-за его нерастворимо-

сти при нейтральных и слабощелочных значениях pH. Некоторые микроорганизмы вырабатывают специальные вещества — сидерофоры, которые, связывая железо, делают его растворимым и транспортабельным. Бактерии активно ассимилируют из среды анионы $SO^{2}{}_4{}^{+}$ и $PO^{3}{}_4{}^{+}$ для синтеза соединений, содержащих эти элементы (серосодержащие аминокислоты, фосфолипиды и др.).

4.1.7. Энергетический метаболизм (биологическое окисление)

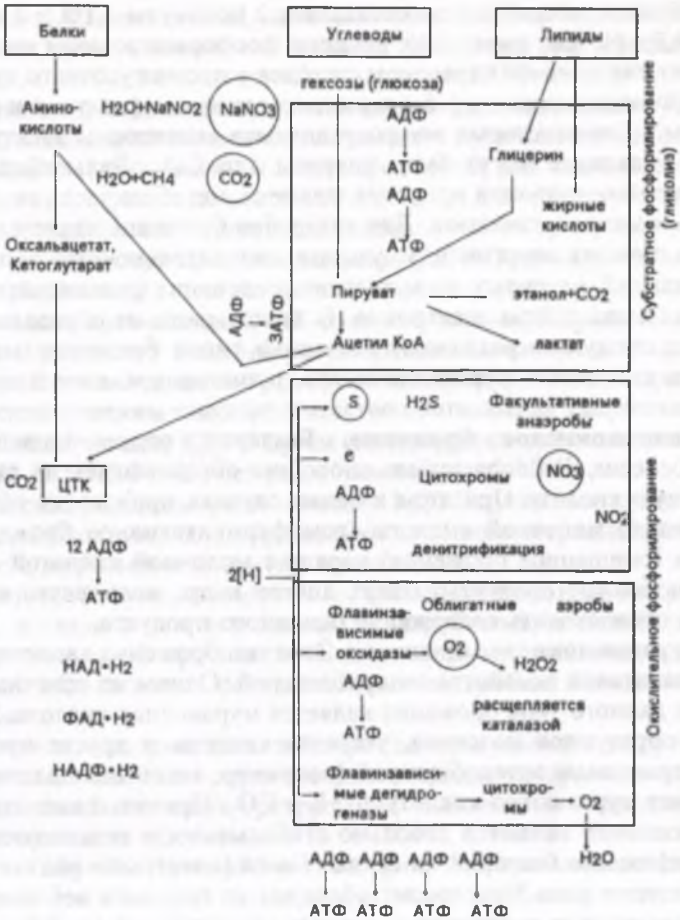
Для синтеза структурных компонентов микробной клетки и поддержания процессов жизнедеятельности наряду с питательными веществами требуется достаточное количество энергии. Эта потребность удовлетворяется за счет биологического окисления, в результате которого синтезируются молекулы АТФ.

Мир микроорганизмов очень разнообразен. Некоторые из них могут получать энергию даже из минеральных соединений. Так, например, железобактерии получают энергию, выделяющуюся при непосредственном окислении ими железа (Fe^{2+} в Fe^{3+}), которая используется для фиксации CO_2, бактерии, метаболизирующие серу, обеспечивают себя энергией за счет окисления серосодержащих соединений. Однако подавляющее большинство прокариот получает энергию путем дегидрогенирования.

Аэробы для этой цели нуждаются в свободном кислороде. Облигатные (строгие) аэробы (например, некоторые виды псевдомонад) не могут жить и размножаться в отсутствие молекулярного кислорода, поскольку они используют его в качестве акцептора электронов. Молекулы АТФ образуются ими при окислительном фосфорилировании с участием цитохромоксидаз, флавинзависимых оксидаз и флавинзависимых дегидрогеназ. При этом, если конечным акцептором электронов является O_2, выделяются значительные количества энергии (схема 4.4).

Анаэробы получают энергию при отсутствии доступа кислорода путем ускоренного, но не полного расщепления питательных веществ. Облигатные анаэробы (например, возбудители столбняка, ботулизма) не переносят даже следов кислорода. Они могут образовывать АТФ в результате окисления углеводов, белков и липидов путем субстратного фосфорилирования до пирувата (пировиноградной кислоты). При этом выделяется сравнительно небольшое количество энергии.

Существуют факультативные анаэробы, которые могут расти и размножаться как в присутствии кислорода воздуха, так и без него. Они образуют АТФ при окислительном и субстратном фосфорилировании.



Обозначение : ◯ - акцепторы электронов

Примечание: Наряду с гликолизом микроорганизмы расщепляют глюкозу фосфоглюконатным и кетодезоксифосфоглюконатным путями. Объяснения в тексте.

С х е м а 4.4. Биологическое окисление у прокариот. Образование АТФ при окислении углеводов, жиров и белков

4.1.7.1. Получение энергии путем субстратного фосфорилирования. Брожение

Микроорганизмы расщепляют гексозы (глюкозу) тремя путями — в гликолитическом, гексозомонофосфатном и 2-кето-3-дезокси-6-глюконатном циклах.

1. Гликолиз (путь Эмдена — Мейергофа). В результате расщепления глюкозы расходуется 2 и синтезируется 4 молекулы АТФ. Та-

ким образом, общий выход составляет 2 молекулы АТФ и 2 молекулы НАД • H_2 (см. схему 4.4). Реакции фосфорилирования, непосредственно связанные с переносом фосфата с промежуточного продукта на АДФ, называются субстратным фосфорилированием. Для некоторых микроорганизмов акцептором электронов в цикле гликолиза могут быть нитраты или CO_2. Дальнейшие пути превращения пирувата предопределяются метаболическими особенностями микроорганизмов. Для анаэробов брожение является способом получения энергии в результате окислительно-восстановительных реакций, в которых органические соединения функционируют как доноры и акцепторы электронов. В зависимости от образования конечных продуктов различают несколько типов брожения: молочнокислое, спиртовое, муравьинокислое, пропионовокислое и др., каждое из которых вызывается соответствующими микроорганизмами.

Молочнокислое брожение. Бактерии родов Lactobacillus, Streptococcus, Bifidobacterium способны образовывать из пирувата молочную кислоту. При этом в одних случаях происходит образование только молочной кислоты (гомоферментативное брожение), в других (смешанное брожение) наряду с молочной кислотой образуются побочные продукты: спирт, ацетон и др., количество которых может превосходить содержание основного продукта.

Муравьинокислое брожение. Этот тип брожения характерен для представителей семейства энтеробактерий. Одним из конечных продуктов данного типа брожения является муравьиная кислота. Наряду с ней образуются молочная, уксусная кислоты и другие продукты. Некоторые виды энтеробактерий (например, кишечная палочка) расщепляют муравьиную кислоту до H_2 и CO_2. Признаки кислото- и газообразования являются довольно стабильными и используются для идентификации бактерий на средах Гисса («пестрый» ряд).

Бактерии рода Enterobacter образуют из пирувата небольшое количество кислых продуктов и ацетилметилкарбинол (ацетоин). Последний определяют в реакции Фогес — Проскауэра с целью идентификации данных бактерий.

Маслянокислое брожение. Одним из основных продуктов брожения является масляная кислота. При этом типе брожения образуются также уксусная кислота, CO_2 и H_2. Некоторые виды клостридий наряду с масляной и другими кислотами образуют бутанол, ацетон и некоторые другие соединения. В данном случае они вызывают ацетонобутиловое брожение.

Пропионовокислое брожение характерно для пропионобактерий, которые из пирувата образуют пропионовую кислоту.

Многие бактерии при сбраживании углеводов наряду с другими продуктами образуют этиловый спирт. При этом он, как правило, не является основным продуктом.

2. Фосфогликонатный, или гексозомонофосфатный (ГКМ), путь. Этот путь расщепления глюкозы характерен для многих микроорганизмов. Последовательность реакций ГМФ-пути у бактерий идентична той, которая присуща клеткам высших организмов. Основным функциональным назначением данного пути является подготовка углеводных компонентов (пентозофосфатов) для биосинтеза нуклеиновых кислот, а также основной массы НАДФ • H_2, необходимого для различных биосинтетических реакций.

3. Кетодезоксифосфоглюконатный (КДФГ) путь (Энтнера — Дудорова). Данным путем расщепляют глюкозу некоторые гетеротрофы, у высших организмов КДФГ-путь отсутствует. Пировиноградная кислота образуется у этих микроорганизмов двумя путями: при расщеплении 2-кето-3-дезокси-6-фосфоглюконовой кислоты и при окислении глицеринальдегид-3-фосфата так же, как при гликолизе. При расщеплении глюкозы КДФГ-путем синтезируется по 1 молекуле АТФ, НАД • H_2 и НАДФ • H_2 без газообразования.

Бактерии, расщепляющие глюкозу КДФГ-путем, не имеют ферментов, необходимых для образования из пировиноградной кислоты молочной, муравьиной и других кислот.

КДФГ-путь функционирует в основном у аэробных микроорганизмов, в связи с чем его называют «аэробным», а метаболизм — «окислительным». В противоположность этому гликолитический путь, присущий облигатным и факультативным анаэробам, называют «бродильным».

Многие микроорганизмы помимо глюкозы усваивают другие моносахариды, а также ди-, три- и олигосахариды, которые после определенных катаболических превращений включаются в тот или иной путь расщепления глюкозы.

Таким образом, при субстратном фосфорилировании из глюкозы или других источников углерода получают лишь незначительную часть энергии. Образующиеся при этом «неокисленные» продукты брожения не могут использоваться клеткой в анаэробных условиях и выводятся из нее. Так, например, в молочной кислоте, спирте сохраняются значительные количества энергии, имеющейся в исходном продукте. Полное освобождение энергии происходит только при окислении глюкозы до CO_2 и H_2O.

4.1.7.2. Получение энергии путем окислительного фосфорилирования

Пируват, образующийся в процессе гликолиза, окисляется до ацетил-КоА («активированная уксусная кислота»), который при взаимодействии с уксусной кислотой включается в цикл трикарбоновых кислот (ЦТК). В этой универсальной биохимической «машине», при-

сущей как аэробным, так и анаэробным микроорганизмам, происходит расщепление ацильных групп с освобождением 4 пар атомов Н, которые восстанавливают НАД, ФАД и НАДФ до НАД • H_2, ФАД •H_2 и НАДФ • H_2. Не менее важная функция ЦТК состоит в образовании предшественников аминокислот, которые вовлекаются в реакции биосинтеза. Этим можно объяснить наличие большинства ферментов ЦТК у облигатных анаэробов.

У прокариот, так же как и у эукариот, в ЦТК вовлекаются продукты катаболизма аминокислот и жирных кислот через ацетил-КоА (см. схему 4.4).

У всех аэробных и факультативно-анаэробных бактерий дыхательная цепь локализована на цитоплазматической мембране. Перенос электронов на молекулярный кислород осуществляется комплексом никотинамидных дегидрогеназ либо хинонов и цитохромов. При этом дыхательная цепь в зависимости от видовой принадлежности бактерий различается по составу промежуточных переносчиков и природы конечного акцептора электронов.

У бактерий распространены системы окисления субстрата, связанные не с цитохромами, а с флавинзависимыми оксидазами, которые опосредуют взаимодействие субстрата с O_2. При этом водород ФАД • H_2 может непосредственно передаваться O_2 с образованием H_2O_2, которые аэробные бактерии расщепляют с помощью каталазы. Накопление перекиси водорода у анаэробов, не имеющих каталазы, приводит к задержке их роста и гибели.

У факультативных анаэробов в качестве конечного акцептора электронов в анаэробных условиях могут использоваться нитраты с образованием NO_3 и NO_2. Этот процесс называется нитрификацией. Вместо цитохромоксидазы у них функционирует нитратредуктаза.

4.2. ПИГМЕНТЫ

Многие микроорганизмы в процессе своей жизнедеятельности синтезируют пигменты, различающиеся по цвету, химическому составу и растворимости.

Жирорастворимые каротиноидные пигменты красного, оранжевого или желтого цветов образуют сарцины, микобактерии туберкулеза, некоторые актиномицеты. Эти пигменты предохраняют их от действия УФ-лучей. Нерастворимые в воде и даже сильных кислотах пигменты черного или коричневого цвета — меланины — синтезируются облигатными анаэробами Bacteroides niger и др. К пирроловым пигментам ярко-красного цвета относится продигиозин, образуемый некоторыми серациями. Водорастворимые фенозиновые пигменты, например пиоцианин, продуцируются синегнойными бактериями

(Pseudomonas aeruginosa). При этом питательная среда с нейтральным или щелочным pH окрашивается в сине-зеленый цвет.

Цвет пигмента используется в качестве теста для идентификации пигментообразующих бактерий.

4.3. СВЕТЯЩИЕСЯ И АРОМАТООБРАЗУЮЩИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ

Некоторые бактерии, вибрионы и грибы обладают способностью светиться (люминесцировать). Они вызывают свечение тех субстратов, например чешуи рыб, высших грибов, гниющих деревьев, пищевых продуктов, на поверхности которых размножаются. Большинство светящихся бактерий относятся к галофильным видам, способным размножаться при повышенных концентрациях солей. Они обитают в морях и океанах и редко — в пресных водоемах. Все светящиеся бактерии являются аэробами. Механизм свечения связан с освобождением энергии в процессе биологического окисления субстрата.

Свечение пищевых продуктов, вызванное бактериями, не приводит к их порче. Более того, оно свидетельствует об отсутствии в этих продуктах процесса гниения, поскольку свечение прекращается при развитии гнилостных микроорганизмов.

Некоторые микроорганизмы вырабатывают летучие ароматические вещества, например уксусно-этиловый и уксусно-амиловый эфиры, которые придают аромат вину, пиву, молочнокислым и другим пищевым продуктам, вследствие чего применяются в их производстве.

4.4. РОСТ И РАЗМНОЖЕНИЕ БАКТЕРИЙ

Под ростом клетки понимают координированное воспроизведение всех клеточных компонентов и структур, ведущее в конечном итоге к увеличению массы клетки. Термином «размножение» обозначают увеличение числа клеток в популяции. Большинство прокариот размножаются поперечным делением, некоторые почкованием. Грибы размножаются путем спорообразования.

При размножении микробной клетки наиболее важные процессы происходят в ядре (нуклеоиде), содержащем всю генетическую информацию в двунитевой молекуле ДНК. Репликация ДНК происходит полуконсервативным способом, обеспечивающим равномерное распределение генетического материала между дочерними клетками. Надежность процесса репликации и правильность расхождения (сег-

регация) дочерних цепей обеспечивается связью ДНК с цитоплазматической мембраной.

Репликация начинается в определенной точке (локус) ДНК и происходит одновременно в двух противоположных направлениях. Синтез дочерних нитей ДНК идет ступенчато, короткими фрагментами, равными 1–2 тыс. нуклеотидов, которые «сшиваются» специальным ферментом лигазой.

Параллельно с репликацией ДНК начинается образование межклеточной (поперечной) перегородки. Вначале с обеих сторон клетки происходит врастание двух слоев цитоплазматической мембраны. Затем между ними синтезируется пептидогликан. Этот процесс чувствителен к действию некоторых антибиотиков (пенициллинов), ингибирующих синтез пептидогликана.

В период репликации ДНК и образования перегородки микробная клетка непрерывно растет. Наряду с пептидогликаном синтезируются биополимеры, входящие в состав цитоплазматической мембраны, рибосом и цитоплазмы. На последней стадии дочерние клетки отделяются друг от друга. В этом период у грамотрицательных бактерий синтезируется наружная мембрана, которая встраивается между двумя слоями пептидогликана межклеточной перегородки. В том случае, когда разделившиеся бактериальные клетки сохраняют межклеточные связи, образуются цепочки, состоящие из клеток шаровидных или палочковидных форм (стрептококки и стрептобактерии).

Подавляющее большинство актиномицет размножается путем фрагментации нитевидных клеток с образованием палочковидных или кокковидных форм.

Облигатные внутриклеточные паразиты риккетсии и хламидии размножаются неодинаковыми способами. Риккетсии размножаются так же, как и бактерии, путем бинарного деления (см. рис. 3.9). Хламидии проходят определенный цикл развития. Элементарные тельца, попадая в вакуоль чувствительной клетки, преобразуются в вегетативные формы — инициальные или ретикулярные тельца, которые способны к делению. После нескольких делений они преобразуются в промежуточные формы, из которых формируется новое поколение элементарных телец (см. рис. 3.10). После разрыва стенки вакуоли и разрушения клетки хозяина элементарные тельца освобождаются, и весь цикл повторяется в других клетках. Продолжительность цикла составляет 40–48 ч.

У микоплазм основными репродуцирующимися морфологическими единицами являются мелкие элементарные тела сферической или овоидной формы величиной 130–220 нм, которые размножаются путем фрагментации или почкования. У некоторых видов микоплазм отмечается образование сравнительно крупных шаровидных тел, от которых отпочковываются дочерние клетки. Клетки микоплазм могут

размножаться также поперечным делением, если оно происходит синхронно с репликацией ДНК. При нарушении синхронности образуются мононуклеоидные нитевидные клетки, которые в последующем делятся на кокки.

4.4.1. Размножение бактерий на жидких и плотных питательных средах. Фазы развития бактериальной популяции

Бактерии, как правило, характеризуются высокой скоростью размножения по сравнению с другими прокариотами. Скорость их размножения, помимо видовой принадлежности, зависит от состава питательной среды, pH, температуры, аэрации и других факторов. На плотных питательных средах бактерии образуют скопления клеток, называемые колониями. Внешний вид колоний у многих бактерий настолько характерен, что может служить одним из дифференциальных признаков для их идентификации. Колонии разных видов отличаются по своим размерам, форме, поверхности, окраске, прозрачности и др. (рис. 4.1). Однако эти признаки могут изменяться в зависимости от условий культивирования.

На жидких средах рост бактерий характеризуется образованием пленки на поверхности питательной среды, равномерного помутнения, либо осадка.

Размножение бактерий определяется временем генерации, т.е. периодом, в течение которого осуществляется деление клетки. Продолжительность генерации зависит от вида бактерий, возраста, популяции, состава питательной среды, температуры и других факторов.

Рис. 4.1. Разные типы колоний бактерий

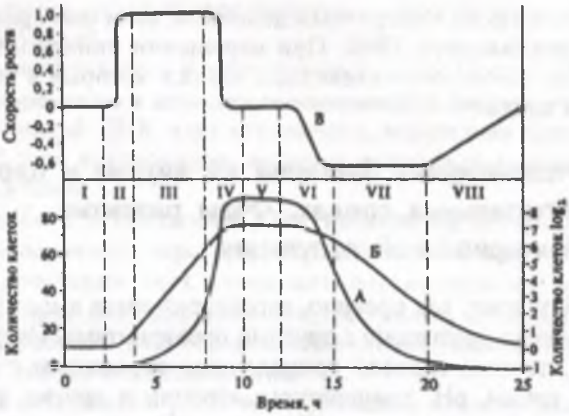


Рис. 4.2. Фазы (А, Б) и скорость (В) роста бактерий (объяснение в тексте)

В оптимальных условиях время генерации у разных бактерий колеблется довольно в широких пределах: от 20 мин. у кишечной палочки до 14 ч у микобактерий туберкулеза, в связи с чем их колонии образуются через 18–20 ч либо через 3–6 недель соответственно.

При выращивании бактерий в жидкой питательной среде наблюдается последовательная смена отдельных фаз в развитии популяции, отражающая общую закономерность роста и размножения бактериальных клеток.

Динамика развития бактериальной популяции представлена на рис. 4.2.

I — исходная стационарная фаза начинается после внесения бактерий в питательную среду. В течение данной фазы число бактериальных клеток не увеличивается (рис. 4.2, I).

II — лаг-фаза, или фаза задержки размножения (см. рис. 4.2, II), характеризуется началом интенсивного роста клеток, но скорость их деления остается невысокой. Две первые фазы можно назвать периодом адаптации бактериальной популяции, продолжительность которого определяется возрастом культуры, а также количеством и качеством питательной среды.

III — лог-фаза, или логарифмическая (экспоненциальная) фаза (см. рис. 4.2, III), отличается максимальной скоростью размножения клеток и увеличением численности бактериальной популяции в геометрической прогрессии. Логарифмическая фаза у бактерий с коротким временем генерации продолжается несколько часов.

IV — фаза отрицательного ускорения (см. рис. 4.2, IV) характеризуется меньшей активностью бактериальных клеток и удлинением периода генерации. Это происходит в результате истощения питатель-

ной среды, накопления в ней продуктов метаболизма и дефицита кислорода.

Максимальная стационарная фаза (см. рис. 4.2, V) характеризуется равновесием между количеством погибших, вновь образующихся и находящихся в состоянии покоя клеток. Графически максимальная стационарная фаза изображается в виде прямой линии, параллельной оси абсцисс. При этом количество живых бактерий в популяции обозначают как их максимальную (M) концентрацию в единице объема питательной среды. Данный признак является достаточно стабильным для определенного вида бактерий в стандартных условиях.

VI — фаза логарифмической гибели бактерий (см. рис. 4.2, VI) происходит в постоянной скоростью и сменяется VII–VIII фазами уменьшения скорости отмирания клеток.

4.4.2. Принципы культивирования и идентификации бактерий

Микроорганизмы (за исключением облигатных внутриклеточных паразитов — риккетсий, хламидий, вирусов и простейших) культивируют, как правило, на искусственных питательных средах. В зависимости от пищевых потребностей того или другого вида питательные среды должны содержать соответствующие исходные вещества, необходимые для пластического и энергетического метаболизма.

Выделение микроорганизмов из различных материалов и получение их культур широко используется в лабораторной практике для микробиологической диагностики инфекционных заболеваний, в научно-исследовательской работе и в микробиологическом производстве вакцин, антибиотиков и других биологически активных продуктов микробной жизнедеятельности.

Условия культивирования также зависят от свойств соответствующих микроорганизмов. Большинство патогенных микробов выращивают на питательных средах при температуре 37°C в течение 1–2 сут. Однако некоторые из них нуждаются в более длительных сроках. Например, бактерии коклюша — в 2–3 сутках, а микобактерии туберкулеза — в 3–4 неделях.

Для стимуляции процессов роста и размножения аэробных микробов, а также сокращения сроков их выращивания используют метод глубинного культивирования, который заключается в непрерывном аэрировании и перемешивании питательной среды. Глубинный метод нашел широкое применение в биотехнологии.

Для культивирования анаэробов применяют особые методы, сущность которых заключается в удалении воздуха или замены его инер-

тными газами в герметизированных термостатах — анаэростатах. Анаэробов выращивают на питательных средах, содержащих редуцирующие вещества (глюкозу, муравьинокислый натрий и др.), уменьшающие окислительно-восстановительные потенциал.

В диагностической практике особое значение имеют чистые культуры бактерий, которые выделяются из исследуемого материала, взятого у больного или объектов окружающей среды. С этой целью используют искусственные питательные среды, которые подразделяют на основные, дифференциально-диагностические и элективные самого разнообразного состава. Выбор питательной среды для выделения чистой культуры имеет существенное значение при бактериологической диагностике.

В большинстве случаев используют твердые питательные среды, предварительно разлитые в чашки Петри. На поверхность среды петлей помещают исследуемый материал и растирают шпателем, чтобы получить изолированные колонии, выросшие из одной клетки. Пересев изолированной колонии на скошенную агаровую среду в пробирку приводит к получению чистой культуры.

Для идентификации, т.е. определения родовой и видовой принадлежности выделенной культуры, чаще всего изучают фенотипические признаки:

а) морфологию бактериальных клеток в окрашенных мазках, либо нативных препаратах;

б) биохимические признаки культуры по ее способности ферментировать углеводы (глюкоза, лактоза, сахароза, мальтоза, маннит и др.), образовывать индол, аммиак и сероводород, являющиеся продуктами протеолитической активности бактерий.

Для более полного анализа применяют газово-жидкостную хромографию и другие методы.

Наряду с бактериологическими методами для идентификации чистых культур широко используют иммунологические методы исследования, которые направлены на изучение антигенной структуры выделенной культуры. С этой целью используют серологические реакции: агглютанации, преципитации иммунофлюоресценции, связывания комплемента, иммуноферментный, радиоиммунный методы и др.

В настоящее время все более широкое применение в медицинской микробиологии находят генотипические методы, основанные на определении гомологии ДНК искомого микроорганизма в исследуемом материале, с эталонной ДНК. С этой целью используют полимеразную цепную реакцию (ПЦР) (рис. 4.5) и генетические зонды (рис. 4.3), сэндвичгибридизацию (рис. 4.4). Для постановки ПЦР ДНК-праймер — короткую однонитевую последовательность нуклеотидов, комплементарную начальному и конечному участку ДНК, — в избытке

Рис. 4.3

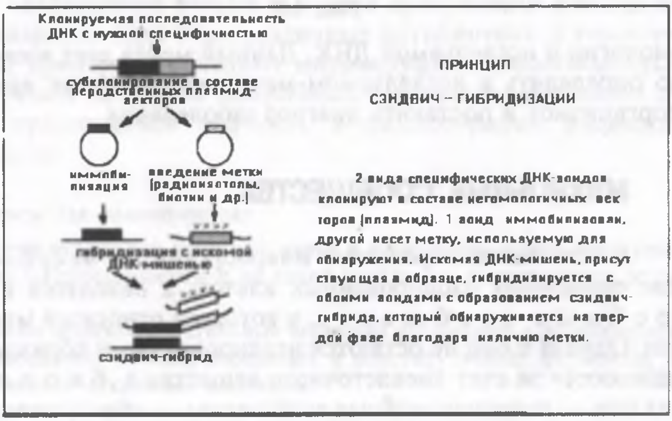


Рис. 4.4

добавляют к нуклеиновой кислоте выделенной из исследуемого материала. После этого проводят гибридизацию. При наличии искомого гена происходит его гибридизация с праймером. После добавления ДНК-полимеразы и нуклеотидов начинается достраивание ДНК. Весь цикл многократно повторяется, в результате чего происходит амплификация генов, которые легко обнаруживаются. ПЦР в настоящее время широко применяется для диагностики большинства бактериальных и вирусных инфекций. Наряду с ПЦР для генетической идентификации применяют нуклеиновые зонды.

Зонд представляет собой плазмидную ДНК с интегрированным в нее фрагментом ДНК, меченным контрастным веществом или радиоактивной меткой. Меченый зонд вместе с исследуемым материалом наносится на мембранный фильтр, после чего определяется степень

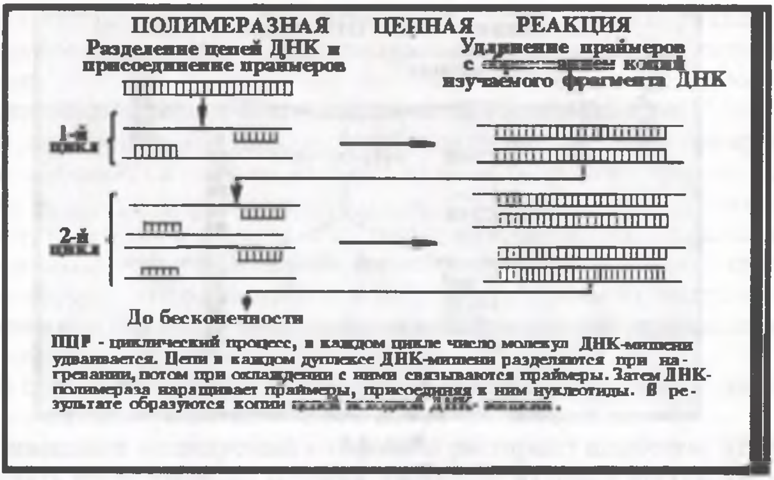


Рис. 4.5

его гомологии и исследуемой ДНК. Данный метод дает возможность быстро определить в исследуемом материале ДНК тех или других микроорганизмов и поставить диагноз заболевания.

4.5. МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА

В естественных условиях микроорганизмы не существуют в качестве одиночных изолированных клеток, а находятся в составе микробных сообществ, к которым относятся микробные колонии. Однако и они не остаются изолированными образованиями, а объединяются за счет внеклеточного вещества в биопленки. Одни из них — колониеподобные сообщества — образуются при размножении бактерий одного вида, другие — смешанные микробные сообщества (СМС) — формируются при размножении бактерий разных видов. Они сравнительно устойчивы к факторам окружающей среды и встречаются у разных представителей грамотрицательных и грамположительных бактерий.

В микробных сообществах бактерии обладают неизвестными ранее свойствами, проявляя признаки многоклеточных организмов. Сообщества покрыты поверхностной пленкой, основу которой составляет элементарная мембрана. Она покрывает всю поверхность сообщества с наружной и внутренней стороны и состоит из белков и полисахаридов. В СМС наружная мембрана является общей для разных микроорганизмов.

Внутри микробного сообщества бактерии объединены в целостную структуру за счет межклеточных контактов двух типов. К перво-

му относятся цитоплазматические мостики — тончайшие мембранные трубочки, соединяющие цитоплазмы различных клеток. Второй тип характеризуется тесным слипанием бактериальных клеток, при котором на определенных участках бактерии имеют общую клеточную стенку. Наличие подобных контактов обеспечивает бактериям передачу различных молекул, имеющих небольшую массу. Это обусловливает возможность генерирования общих ответов на внешние воздействия даже в том случае, если они достигли малого числа клеток.

Значение микробных сообществ состоит в том, что они выполняют защитную функцию, обеспечивая более высокую устойчивость к воздействию внешних факторов.

В организме человека бактерии также существуют в виде микробных сообществ. Это касается как нормальной микрофлоры, так и патогенов. В процессе колонизации они образуют сообщества, которые постепенно объединяются в биопленки. Выживаемость бактерий в таких сообществах весьма высока в присутствии антибактериальных препаратов. При этом различные антибиотики и химиотерапевтические препараты обладают индивидуальной способностью проникать сквозь оболочки микробных сообществ, что имеет существенное практическое значение в химиотерапии инфекционных заболеваний.

Вопросы для самоконтроля

1. Какие источники углерода, азота и электронов используют хемосинтезирующие микроорганизмы и на какие группы их подразделяют по типу питания?
2. Каким образом питательные вещества проникают в микробную клетку?
3. Расскажите об индуцибельных и конститутивных ферментах микробной клетки и о механизме индукции.
4. Каковы пути биосинтеза аминокислот, углеводов и липидов в микробных клетках?
5. Какими путями микроорганизмы получают энергию и какие катаболические реакции присущи только им?
6. Каким путем размножается бактериальная клетка и каков механизм равномерного распределения генетического материала в дочерних клетках на молекулярном уровне?
7. Расскажите о фазах развития бактериальной популяции в жидких питательных средах.
8. Какие питательные среды используют для выделения бактерий?
9. Какие питательные среды используют для дифференциации бактерий?
10. Какие питательные среды используют для культивирования бактерий?
11. Какие методы культивирования бактерий используют в биотехнологии?
12. Как культивируют анаэробных бактерий?
13. Какие тесты используются для идентификации бактерий?
14. В чем заключаются генотипические методы идентификации бактерий (ПЦР, генетические зонды, сэндвич-гибридизация)?

ГЛАВА 5
ОБЩАЯ ВИРУСОЛОГИЯ

Современная вирусология представляет собой бурно развивающуюся отрасль естествознания, оказывающую большое влияние на развитие многих медико-биологических и клинических дисциплин. Изучение механизмов репродукции вирусов показало возможность их воспроизведения только из одной нуклеиновой кислоты — ДНК или РНК. Открытие и последующее изучение явлений лизогении и вирогении, свидетельствующих о возможности сохранения вирусной информации и передаче ее потомству в составе клеточного генома, потребовало пересмотра сложившихся понятий о механизмах формирования персистирующих инфекций и онкологических заболеваний. Открытие нового вируса иммунодефицита человека ВИЧ доказало возможность образования новых видов, вызывающих определенные нозологические формы инфекций человека в современных условиях. Вместе с тем в области общей вирусологии продолжает оставаться ряд нерешенных проблем, связанных с происхождением, генетикой и молекулярной биологией вирусов, изысканием путей химиотерапии вирусных инфекций и т.д.

5.1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСОВ

Стремительные темпы развития вирусологии во второй половине XX в. позволили получить важнейшие сведения о структуре и химическом составе разных вирусов, в том числе их генома, а также о характере взаимодействия с клетками хозяев.

Полученные материалы свидетельствуют о том, что вирусы существуют в двух качественно разных формах: внеклеточной — вирион и внутриклеточной — вирус. Вирион наиболее простого вируса представляет собой нуклеопротеид, в состав которого входит вирусный геном, защищенный белковой оболочкой — капсидом. В то же время внутриклеточный вирус есть самореплицирующаяся форма, не способная к бинарному делению.

Таблица 5.1

Некоторые таксономические признаки представителей важнейших семейств вирусов человека и животных

Таксономический признак	Семейство	Важнейшие представители
I. ДНК-содержащие вирусы		
Двунитевая ДНК. Отсутствие внешней оболочки	Аденовирусы	Аденовирусы
	Паповирусы	Вирусы папиломы, полиломы и бородавок человека
Однонитевая ДНК. Отсутствие внешней оболочки	Парвовирусы	Аденоассоциированные вирусы
Двунитевая ДНК. Наличие внешней оболочки	Герпесвирусы	Вирусы простого герпеса, цитомегалии, ветряной оспы
	Гепаднавирусы	Вирус гепатита В
	Поксвирусы	Вирусы натуральной оспы, осповакцины
II. РНК-содержащие вирусы		
Плюс-однонитевая РНК. Отсутствие внешней оболочки	Пикорнавирусы	Вирусы полиомиелита, Коксаки, ЕСНО, вирус гепатита А
	Калицивирусы	Вирусы гастроэнтерита детей (Норфолк)
Двунитевая РНК. Отсутствие внешней оболочки	Реовирусы	Реовирусы, ротавирусы, орбивирусы
Наличие обратной транскриптазы	Ретровирусы	ВИЧ, вирусы Т-лейкоза, онковирусы
Плюс-однонитевая РНК. Наличие внешней оболочки	Тогавирусы	Вирусы омской геморрагической лихорадки, краснухи
Плюс-нитевая РНК (позитивным геном)	Флавивирусы	Вирусы клещевого энцефалита, лихорадка денге, желтой лихорадки
Минус-однонитевая РНК	Буньявирусы	Вирусы Буньямвера, крымской геморрагической лихорадки
	Аренавирусы	Вирусы лимфоцитарного хориоменингита, болезни Лассо
	Рабдовирусы	Вирусы бешенства, везикулярного стоматита
Двунитевая РНК. Наличие внешней оболочки	Парамиксовирусы	Вирусы парагриппа, паротита, кори, РСВ
	Ортомиксовирусы	Вирусы гриппа человека, животных, птиц

Тем самым в определение вируса закладывается принципиальное различие между клеточной формой микроорганизмов, размножающихся бинарным делением, и реплицирующейся формой, воспроизводящейся только из вирусной нуклеиновой кислоты. Однако качественное отличие вирусов от про- и эукариот не ограничивается только одной этой стороной, а включает ряд других:

1) наличие одного типа нуклеиновой кислоты (ДНК или РНК);

2) отсутствие клеточного строения и белоксинтезирующих систем;

3) возможность интеграции в клеточный геном и синхронной с ним репликации.

Вместе с тем вирусы отличаются от обычных репликонов, какими являются молекулы ДНК всех микроорганизмов и любых других клеток, а также плазмид и транспозонов (*см. 6.2.2*), поскольку упомянутые репликоны являются биомолекулами, которые нельзя отнести к живой материи.

Классификация и таксономия вирусов. Вирусы составляют царство Vira, которое подразделено по типу нуклеиновой кислоты на два подцарства — рибовирусы и дезоксирибовирусы. Подцарства делятся на семейства, которые в свою очередь подразделяются на роды. Понятие о виде вирусов пока еще четко не сформулировано, так же как и обозначение разных видов.

В качестве таксономических характеристик первостепенное значение придается типу нуклеиновой кислоты и ее молекулярно-биологическим признакам: двунитевая, однонитевая, сегментированная, несегментированная, с повторяющимися и инвертированными последовательностями и др. Однако в практической работе прежде всего используются характеристики вирусов, полученные в результате электронно-микроскопических и иммунологических исследований: морфология, структура и размеры вириона, наличие или отсутствие внешней оболочки (суперкапсида), антигены, внутриядерная или цитоплазматическая локализация и др. Наряду с упомянутыми признаками учитываются резистентность к температуре, pH, детергентам и т.д.

В настоящее время вирусы человека и животных включены в состав 18 семейств (табл. 5.1). Принадлежность вирусов к определенным семействам определяется типом нуклеиновой кислоты, ее структурой, а также наличием или отсутствием внешней оболочки. При определении принадлежности к семейству ретровирусов обязательно учитывается наличие обратной транскриптазы.

5.1.1. Морфология и структура вирионов

Размеры вирионов различных вирусов варьируют в широких пределах: от 15–18 до 300–400 нм. Они имеют разнообразную форму: палочковидную, нитевидную, сферическую форму параллелепипеда, сперматозоидную (рис. 5.1).

Структура простого вириона — нуклеокапсида — свидетельствует о том, что вирусная нуклеиновая кислота — ДНК или РНК — надежно защищена белковой оболочкой — капсидом. Последний имеет строго упорядоченную структуру, в основе которой лежат

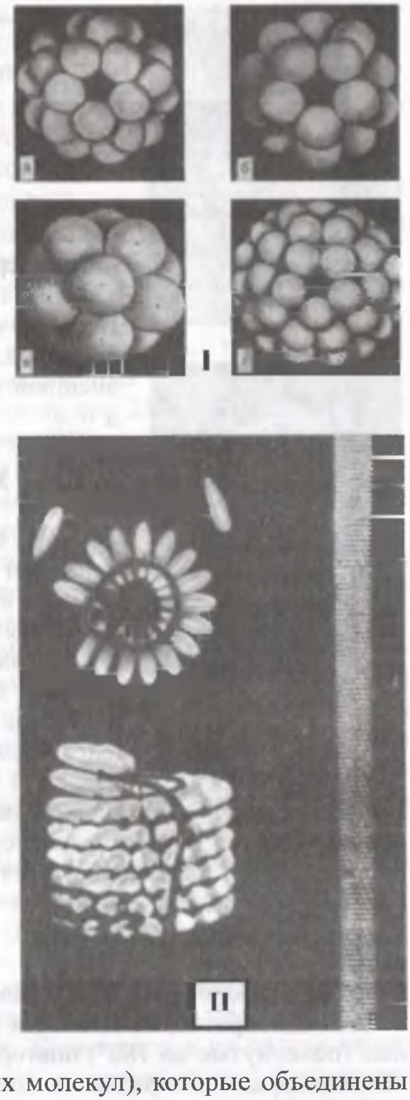


Рис. 5.1. Упаковка морфологических (а, б, в,) и структурных (г) субъединиц по кубическому типу симметрии икосаэдрического вириона (I) и по спиральному типу симметрии у палочковидного вириона (II)

принципы спиральной или кубической симметрии. Капсиды палочковидных и нитевидных вирионов состоят из структурных субъединиц, уложенных в виде спирали вокруг оси. При таком расположении субъединиц образуется полый канал, внутри которого компактно уложена молекула вирусной нуклеиновой кислоты. Ее длина может во много раз превышать длину палочковидного вириона. Например, длина вируса табачной мозаики (ВТМ) 300 нм, а его РНК достигает величины 4000 нм, или 4 мкм. При этом РНК настолько связана с капсидом, что ее нельзя освободить, не повредив последний. Подобные капсиды встречаются у некоторых бактериальных вирусов и у вирусов человека (например, вируса гриппа).

Сферическая структура вирионов определяется капсидом, построенном по принципам кубической симметрии, в основе которой лежит фигура икосаэдра — двадцатигранника. Капсид состоит из асимметричных субъединиц (полипептидных молекул), которые объединены в морфологические субъединицы — капсомеры. Один капсомер содержит 2, 3 или 5 субъединиц, расположенных по соответствующим осям симметрии икосаэдра. В зависимости от типа перегруппировки и числа субъединиц число капсомеров будет равным 30, 20 или 12.

На рис. 5.1 представлены возможные типы простых вирионов, состоящих из определенного количества капсомеров, изображенных в виде шариков, а также капсомеров увеличивающегося объема.

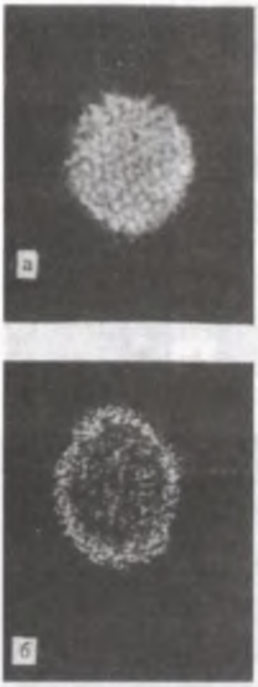


Рис. 5.2. Аденовирус. Электронная микроскопия. Ув. 250 000:
а — негативный контраст; б — ультратонкий срез

Вирионы со сложным капсидом, построенным более чем из 60 структурных субъединиц, содержат группы из 5 субъединиц — пентамеры, или из 6 субъединиц — гексамеры. Нуклеокапсид сложноорганизованных вирионов, называемый «сердцевиной», покрыт внешней оболочкой — суперкапсидом.

5.1.2. Химический состав вирионов

В состав простых вирионов входит один тип нуклеиновой кислоты — РНК или ДНК — и белки. У сложных вирионов в составе внешней оболочки содержатся липиды и полисахариды, первые получают из клеток хозяина, вторые в виде гликопротеидов закодированы в геноме вируса.

Вирусные ДНК. Молекулярная масса ДНК разных вирусов колеблется в широких пределах ($1 \cdot 10^6 - 1 \cdot 10^8$). Она примерно в 10–100 раз меньше молекулярной массы ДНК бактерий. В геноме вирусов содержится до нескольких сотен генов. По своей структуре вирусные ДНК характеризуются рядом особенностей, что дает возможность подразделить их на несколько типов. К ним относятся двунитевые и однонитевые ДНК, которые могут иметь линейную или кольцевую форму.

Хотя в каждой нити ДНК нуклеотидные последовательности встречаются однократно, на ее концах имеются прямые или инвертированные (повернутые на 180°) повторы. Они представлены теми же нуклеотидами, которые располагаются в начальном участке ДНК. Нуклеотидные повторы, присущие как однонитевым, так и двунитевым вирусным ДНК, являются своеобразными маркерами, позволяющими отличить вирусную ДНК от клеточной. Функциональное значение этих повторов состоит в способности замыкаться в кольцо. В этой форме она реплицируется, транскрибируется, приобретает устойчивость к эндонуклеазам и может встраиваться в клеточный геном.

Вирусная РНК. У РНК-содержащих вирусов генетическая информация закодирована в РНК таким же кодом, как в ДНК всех других

вирусов и клеточных организмов. Вирусные РНК по своему химическому составу не отличаются от РНК клеточного происхождения, но характеризуются разной структурой. Наряду с типичной однонитевой РНК у ряда вирусов имеется двунитевая РНК. При этом она может быть линейной и кольцевой. В составе однонитевых РНК имеются спиральные участки типа двойной спирали ДНК, образующиеся вследствие спаривания комплементарных азотистых оснований. Однонитевые РНК в зависимости от выполняемых ими функций подразделяют на две группы. К первой относят РНК, обладающие способностью транслировать закодированную в ней информацию на рибосомы клетки хозяина, т.е. выполнять функцию *и*РНК. Ее называют плюс-нить и обозначают знаком «+» (позитивный геном). Ко второй группе относят вирусные одноцепочечные РНК, которые не могут функционировать как *и*РНК, а так же как ДНК служат лишь матрицей для ее образования. Такие РНК называют минус-нить, обозначают знаком «–» (негативный геном). РНК плюс-нитевых вирусов в отличие от минус-нитевых имеют характерные модифицированные концы в виде «шапочки», которые необходимы для специфического узнавания рибосом. Вирусные РНК состоят из нескольких фрагментов (например, РНК вируса гриппа) или представлены нефрагментированной молекулой (РНК парамиксовирусов).

У двунитевых как ДНК, так и РНК-содержащих вирусов информация обычно записана в одной цепи. Однако существуют вирусы, у которых информация может быть частично закодирована и во второй цепи. Таким образом, достигается экономия генетического материала. В то же время это указывает на то, что проведение оценки количества генетической информации по молекулярной массе ДНК или РНК может оказаться недостоверной.

Вирусные белки, так же как и белки клеточных организмов, подразделяют на *структурные* и *функциональные*. Первые входят главным образом в состав вирусного капсида, вторые представляют собой ферменты, участвующие в процессе репродукции вирусов.

Структурные белки у простых вирионов, лишенных суперкапсида, представлены капсидными белками, которые образуют футляр, защищающий нуклеиновую кислоту. Кроме того, в их состав входят белки, несущие «адресную» функцию, заключающуюся в узнавании специфических рецепторов клеток хозяина. Они могут участвовать также в адсорбции вирусов на этих клетках и проникновении в них. У сложных вирионов, имеющих внешнюю оболочку, капсидные белки также выполняют защитную функцию. Однако они не принимают прямого участия в адсорбции вируса и проникновении к клетку хозяина. У многих сложных вирионов в составе капсидных белков содержатся ферменты, участвующие в репликации и транскрипции вирусных РНК или ДНК. Кроме того, в составе вирионов имеются так

называемые «внутренние» гистоноподобные белки, связанные с вирусной нуклеиновой кислотой. Они образуют рибо- или дезоксирибонуклеопротеиды, которые обладают определенными антигенными свойствами.

Существенной особенностью капсидных белков является строго упорядоченная структура, обеспечивающая построение капсида из субъединиц-капсомеров, состоящих из идентичных полипептидных цепей способных к самосборке. Таким образом достигается экономия генетического материала вируса. В противном случае, для синтеза разных капсидных белков потребовалась бы информация, закодированная в гораздо большем количестве генов.

Внешняя оболочка сложных вирионов состоит из белков, которые входят в состав гликопротеидов и гликолипидов. У многих вирионов они распространяются в виде шиповидных отростков на поверхности суперкапсида. Гликопротеидные шипы обладают антигенными свойствами. Многие из них ответственны за адсорбцию на специфических рецепторах клетки и принимают участие в слиянии с клеточной мембраной, обеспечивая тем самым проникновение вириона в клетку хозяина. Наряду с упомянутыми соединениями в составе суперкапсида имеются гликолипиды.

Липидный и углеводный состав вириона определяется клеткой хозяина, но модифицируется суперкапсидными белками. Липиды стабилизируют структуру сложных вирионов.

Ферменты вирусов. В отличие от прокариот и клеток всех других организмов, вирусы лишены ферментов, участвующих в многочисленных метаболических реакциях. Однако многие вирусы содержат в составе капсидов одну или две группы ферментов. К первой относятся ферменты репликации и транскрипции, ко второй — ферменты, участвующие в проникновении вирусной нуклеиновой кислоты в клетку хозяина и выходе образовавшихся вирионов (нейраминидаза, лизоцим, АТФ-аза).

Ферменты вирусов подразделяют на вирионные и вирусиндуцированные. К первым относят ферменты транскрипции и репликации (ДНК- и РНК-полимеразы), обнаруженные у многих вирусов, обратная транскриптаза ретровирусов, а также эндо- и экзонуклеазы, АТФ-аза, нейраминидаза отдельных вирусов.

Вирусиндуцированными считаются те ферменты, структура которых закодирована в вирусном геноме. Прежде всего это относится к РНК-полимеразам пикорна-, тога-, орто- и парамиксовирусам, а также ДНК-полимеразе покс- и герпесвирусов.

Наряду с собственными вирусы используют клеточные ферменты, которые не являются вирусспецифическими. Однако их активность может модифицироваться в процессе репродукции вируса.

5.2. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ВИРУСА С КЛЕТКОЙ ХОЗЯИНА

Взаимодействие вируса с клеткой хозяина — это сложный многоступенчатый процесс, который начинается с адсорбции вирусных частиц на рецепторах клетки хозяина и продолжается после их проникновения внутрь клетки. В результате такого взаимодействия развивается либо продуктивная, либо абортивная, либо интегративная форма клеточной инфекции. При продуктивной форме происходит размножение, точнее, репродукция (лат. *reproduce* — воспроизводить) вируса, при абортивной — ее нарушение на одном из этапов, при интегративной — интеграция вирусной нуклеиновой кислоты в клеточный геном.

5.2.1. Продуктивная инфекция. Репродукция вирусов

Как отмечалось выше, вирусы являются самореплицирующейся формой, неспособной к бинарному делению, в отличие от микроорганизмов с клеточной организацией. В 50-х годах было установлено, что размножение, или репродукция, вирусов происходит путем репликации их нуклеиновой кислоты и биосинтеза белков с последующей самосборкой вириона. Этот процесс происходит в разных частях клетки — ядре или цитоплазме, вследствие чего получил название дизъюнктивного, т.е. разобщенного размножения.

Вирусная репродукция представляет собой уникальную форму выражения чужеродной (вирусной) информации в клетках человека и животных, насекомых, растений и бактерий, которая состоит в подчинении клеточных матрично-генетических механизмов вирусной информации.

1-я стадия — адсорбция (рис. 5.3, 5.4) — характеризуется прикреплением вириона к клеточным рецепторам, представляющим собой гликопротеины клеточной мембраны, содержащей нейраминовую кислоту. Такие рецепторы имеются у ряда клеток, в частности эрит-

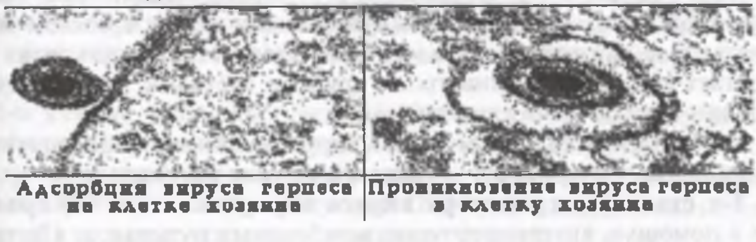


Рис. 5.3. Вирус герпеса (адсорбция и проникновение). ЭМ

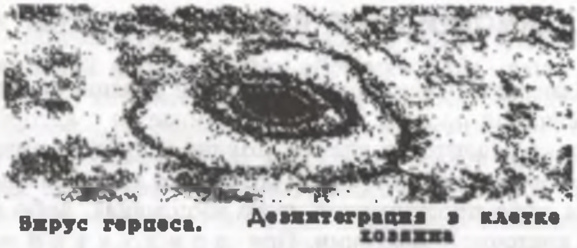


Рис. 5.4. Вирус герпеса (дезинтеграция в клетке). ЭМ

роцитов, на которых адсорбируются многие вирусы. Для орто- и парамиксовирусов специфическими рецепторами являются гликолипиды, содержащие сиаловую кислоту (ганглиозиды), для других — белки или липиды клеточной мембраны.

Рецепторами вирусов являются так называемые прикрепительные белки, располагающиеся в составе капсидов простых вирионов и суперкапсидов сложных вирионов. Они могут иметь форму нитей (фибры у аденовирусов) или шипов (гликопротеиновые образования на внешней оболочке орто- и парамиксо-, рабдо-, арено- и буньявирусов).

Первый этап адсорбции определяется неспецифическими силами межмолекулярного притяжения, второй — специфической структурной гомологией или комплементарностью рецепторов чувствительных клеток и вирусов.

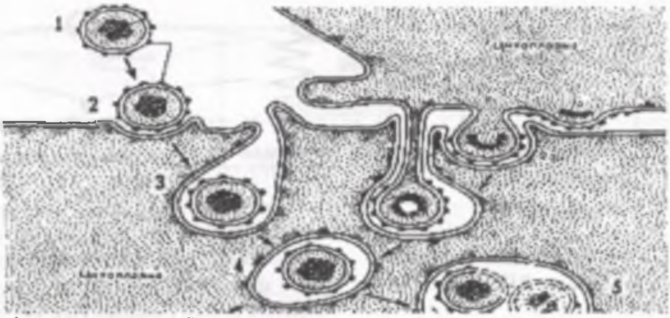
2-я стадия — проникновение вируса в клетку хозяина — происходит несколькими путями.

— Рецепторно-опосредованный эндоцитоз (рис. 5.5) характеризуется образованием в месте взаимодействия вириона с клеточным рецептором окаймленных пузырьков, в формировании которых принимают участие белки-клатрины.

— Виропексис. Этим путем в клетку проникают сложноустроенные вирусы. Он заключается в слиянии мембран — вирусного суперкапсида с клеточной или ядерной мембраной (рис. 5.6). Данный процесс происходит при помощи специального бека слияния — F-белка, который находится в суперкапсиде. В результате виропексиса капсид оказывается в клетке хозяина, а суперкапсид вместе с белком встраивается в ее плазматическую мембрану (вследствие чего клетка приобретает способность сливаться с другими клетками, что приводит к передаче вируса этим клеткам).

— Фагоцитоз. Данным путем вирус проникает в фагоцитирующие клетки, что приводит к незавершенному фагоцитозу.

3-я стадия — транспорт вируса внутри клетки. Он происходит с помощью внутриклеточных мембранных пузырьков, в которых вирус переносится на рибосомы, эндоплазматическую сеть или в ядро.



1 внеклеточный вирион
2 адсорбция
3 впячивание клеточной оболочки
4 локализация вируса в фагосоме
5 проникновение сердцевины вириона в цитоплазму

Рис. 5.5. Проникновение вируса в клетку хозяина путем рецепторного эндоцитоза (схема)

Проникновение вируса в клетку хозяина путем слияния мембран

С – суперкапсид

1 — Внеклеточный онковирус

2, 3, 4 — Последовательные этапы слияния суперкапсида вируса и клетки

Рис. 5.6. Проникновение вируса в клетку хозяина путем слияния мембран (схема)

4-я стадия — «раздевание» вириона — заключается в их депротеинизации и освобождении от суперкапсида и капсида, препятствующих репликации вирусной нуклеиновой кислоты. «Раздевание» вириона начинается сразу же после его прикрепления к клеточным рецепторам и продолжается в эндоцитарной вакуоли и ее слиянии с лизосомами при участии протеолитических ферментов, а также в ядерных порах и околоядерном пространстве при слиянии с ядерной мембраной.

5-я стадия называется **эклипс-фазой,** которая характеризуется исчезновением вириона, поскольку он перестает обнаруживаться при электронной микроскопии. В эту стадию начинается синтез компонентов вириона, т.е. его репродукция. Она носит дизъюнктивный (раздельный) характер, поскольку компоненты вириона синтезируются в разных частях клетки: белки на рибосомах, нуклеиновые кислоты в

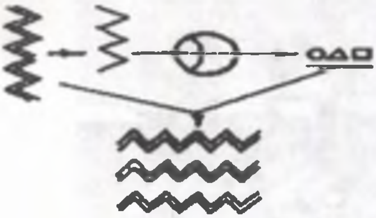


Рис. 5.7. Транскрипция и репликация вирусного ДНК-генома

Рис. 5.8. Транскрипция и репликация РНК-геномных вирусов

ядре или цитоплазме. Вирус использует для этого генетический аппарат клетки, подавляя необходимые ей самой синтетические реакции.

Эта стадия начинается с транскрипции и репликации вирусного генома. Транскрипция вирусного генома двунитевых ДНК-содержащих вирусов происходит, так же как и клеточного генома, по триаде ДНК — *и*РНК — белок (рис. 5.7). Различия касаются только происхождения фермента ДНК-зависимой РНК-полимеразы, необходимой для данного процесса. У вирусов, геном которых транскрибируется в цитоплазме клетки хозяина (например, вирус оспы), имеется собственная вирусспецифическая РНК-полимераза. Вирусы, геномы которых транскрибируются в ядре (папова- и аденовирусы, вирусы герпеса), используют содержащуюся там клеточную РНК-полимеразу II или III.

У РНК-содержащих вирусов транскрипция их генома осуществляется несколькими путями (рис. 5.8).

1. Вирусы с негативным геномом (минус-нитевые), к которым относятся орто-, парамиксо- и рабдовирусы (см. табл. 5.1), имеют в своем составе вирусспецифическую РНК-полимеразу или транскриптазу. Они синтезируют *и*РНК на матрице геномной РНК. Подобный фермент отсутствует в нормальных клетках, но синтезируется клетками, зараженными вирусами.

Он находится в составе как однонитевых, так и двунитевых РНК-содержащих вирусов.

2. У вирусов с положительным геномом (плюс-нитевые), к которым относятся пикорна-, тогавирусы и др., функцию *и*РНК выполняет сам геном, который транслирует содержащуюся в нем информацию на рибосомы клетки хозяина.

3. Особняком стоит группа РНК-содержащих ретровирусов, в составе которых имеется обратная транскриптаза, или ревертаза. Уникальность этого фермента состоит в его способности переписывать информацию с РНК на ДНК. Этот процесс называется о б р а т н о й т р а н с к р и п ц и е й (рис. 5.9).

Как отмечалось выше, количество генов в вирусном геноме весьма ограничено. Поэтому для увеличения количества вирусной инфор-

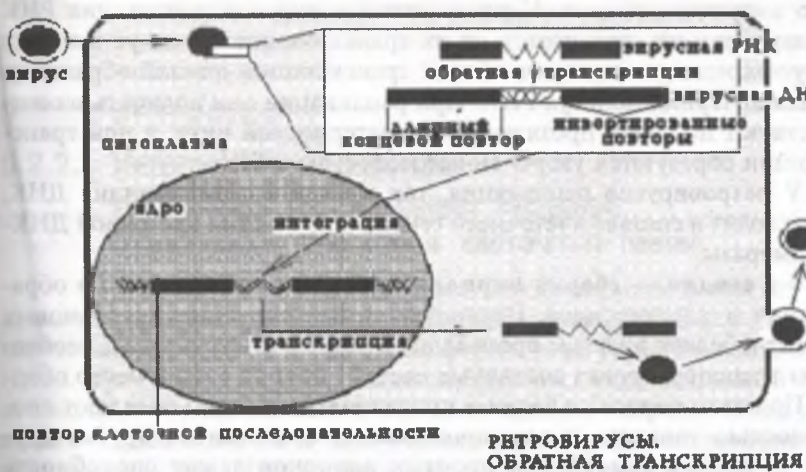


Рис. 5.9. Жизненный цикл ретровируса (схема)

мации существует своеобразный трансляционный механизм, функционирующий через *и*РНК, который передает значительно больше информации, чем записано в вирусной нуклеиновой кислоте. Это достигается разными путями, например при транскрипции информации с переписывающихся участков ДНК на *и*РНК путем с п л а й с и н г а (вырезание бессмысленных кодонов и сшивание концов), а также при считывании антикодонами *т*РНК одной и той же молекулы *и*РНК с разных нуклеотидов. При этом образуются новые триплеты, увеличивающие количество транслируемой информации.

Регуляция транскрипции осуществляется клеточными и вирусспецифическими механизмами. Она заключается в последовательном считывании информации с так называемых «ранних» и «поздних» генов. В первых закодирована информация для синтеза вирусспецифических ферментов транскрипции и репликации, во вторых — для синтеза капсидных белков.

Вирусспецифическая информация транслируется на рибосомы клетки хозяина, которые предварительно освобождаются от клеточных белков и собираются в вирусспецифические полисомы.

Репликация вирусных геномов заключается в синтезе молекул ДНК или РНК, которые накапливаются в фондах этих нуклеиновых кислот, использующихся при сборке вирионов.

Репликация вирусной ДНК происходит на обеих нитях при участии клеточной ДНК-полимеразы. У однонитевых вирусов вначале образуется вторая нить (репликативная форма).

Репликация вирусных РНК происходит только при участии того же вирусспецифического фермента, который катализирует транскрип-

цию вирусного генома. У плюс-нитевых вирусов репликация РНК практически не отличается от их транскрипции. У минус-нитевых вирусов репликация отличается от транскрипции длиной образовавшихся дочерних молекул РНК. При репликации они полностью соответствуют по своей протяженности материнской нити, а при транскрипции образуются укороченные молекулы *и*РНК.

У ретровирусов репликация, так же как и транскрипция ДНК, происходит в составе клеточного генома при участии клеточной ДНК-полимеразы.

6-я стадия — сборка вириона — состоит прежде всего в образовании нуклеокапсидов. Поскольку синтез вирусных нуклеиновых кислот и белков в клетке происходит в разных ее структурах, необходима транспортировка составных частей вириона в одно место сборки. При этом вирусные белки и нуклеиновые кислоты обладают способностью узнавать и самопроизвольно соединяться друг с другом. В основе самосборки простых вирионов лежит способность вирусных полипептидов соединяться в капсомеры, которые, располагаясь вокруг осей симметрии, образуют многогранник. В других случаях полипептиды в виде спирали окружают вирусную нуклеиновую кислоту.

Многие простые вирионы собираются на репликативных комплексах — мембранах эндоплазматического ретикулума. У сложных вирионов сборка нуклеокапсида начинается на репликативных комплексах, а затем продолжается на плазматической мембране, с наружной стороны которой располагаются суперкапсидные гликопротеиды. Затем гликопротеидные и примыкающие к ним с другой стороны нуклеокапсидные участки выпячиваются через клеточную мембрану, образуя почку, как это имеет место у орто- и парамиксовирусов, рабдовирусов. После отделения почки, содержащей нуклеокапсид и суперкапсидные белки, образуются свободные вирионы. Они либо через клеточную плазматическую мембрану проходят во внеклеточное пространство, либо через мембрану эндоплазматического ретикулума проникают в вакуоль эндоплазматической сети. При этом мембранные липиды обволакивают почку, вытесняя из нее белки. Многие ДНК-содержащие вирусы, например вирус герпеса, собираются в ядре клетки на ее мембране, где образуются нуклеокапсиды. Затем они отпочковываются в перинуклеарное пространство, приобретая внешнюю оболочку. Дальнейшее формирование вириона происходит в мембранах цитоплазматического ретикулума и в аппарате Гольджи, откуда вирус транспортируется на поверхность клетки.

7-я стадия — выход вирусных частиц из клетки — происходит двумя путями. Простые вирусы, лишенные суперкапсида, например пикорнавирусы, аденовирусы и др., вызывают деструкцию клетки и попадают во внеклеточное пространство. Другие вирусы, имею-

щие липопротеидную внешнюю оболочку, выходят из клетки путем почкования, в результате чего в течение длительного времени она сохраняет свою жизнеспособность. Такой путь характерен для вируса гриппа и др.

5.2.2. Интегративная инфекция. Интеграция (встраивание) вирусной нуклеиновой кислоты в клеточный геном

Данный путь взаимодействия между вирусом и клеткой хозяина не одинаков для ДНК- и РНК-содержащих вирусов. В первом случае вирусная ДНК в кольцевой форме интегрирует в клеточный геном. При этом место интеграции определяется гомологичными нуклеотидными последовательностями, имеющимися в определенных участках — ДНК сайтах при участии ряда ферментов: рестриктаз, эндонуклеаз, лигаз. Вирус, интегрированный в клеточный геном, называют провирусом.

Провирус может реплицироваться в составе клеточного генома пропорционально делению клетки. При этом каждая дочерняя клетка получает копию провирусного генома. В другом случае амплификация провирусной ДНК с увеличением числа копий провируса без его выщепления из клеточного генома может привести к встраиванию провируса в другую хромосому. Выщепление провируса из клеточного генома и его проникновение в новую клетку может вызвать продуктивную инфекцию.

В случае РНК-содержащих вирусов включение РНК в клеточный геном происходит путем обратной транскрипции (см. рис. 5.7). Механизм обратной транскрипции состоит в первоначальном образовании ДНК-транскрипта на матрице РНК при обязательном участии обратной транскриптазы. Этот транскрипт представляет собой одну нить ДНК, являющуюся матрицей для образования второй нити. Затем образовавшийся двунитевой ДНК-транскрипт замыкается в кольцо и встраивается в клеточный геном. Данный процесс объединения вирусной нуклеиновой кислоты с хромосомой клетки хозяина называется вирогенией. В интегрированном состоянии вирусная ДНК может транскрибироваться в составе клеточного генома при участии клеточных РНК-полимераз.

Биологический смысл интегративного типа взаимодействия между вирусом и клеткой хозяина можно видеть прежде всего в сохранении вирусной информации в составе клеточного генома и ее передаче потомству. Вместе с тем это в определенной степени отражается и на эволюции некоторых вирусов (например, бактериофагов), которые при выщеплении из состава клеточной хромосомы могут захватывать отдельные ее гены (*см. 6.8.2*).

С другой стороны, подобный тип взаимодействия может отразиться на судьбе клеток хозяина в зависимости от расположения локуса, в котором происходит интеграция вирусного генома, вплоть до расстройства регуляции синтеза белка и неконтролируемого деления клетки (*см. 10.3*). Это может привести к онкогенной трансформации клеток хозяина и развитию разнообразных опухолей.

5.2.3. Дефектные вирусы

Дефектные вирусы — вирусы, утратившие в процессе репродукции часть своего генома. Их делят на 4 группы: дефектные интерферирующие частицы, интегрированные геномы, вирусы-спутники и псевдовирионы.

Дефектные интерферирующие частицы представляют собой вирионы, содержащие только часть генетической информации исходного вируса. Они репродуцируются только при участии родственного им вируса-помощника.

Вирусы-спутники отличаются от предыдущих тем, что для своей репродукции требуют участия любого вируса-помощника, не обязательно родственного исходному вирусу. Например, вирус гепатита D (дельта) репродуцируется только в присутствии вируса гепатита B.

Интегрированные геномы представляют собой провирусы, т.е. вирусные геномы, встроенные (интегрированные) в хромосому клетки хозяина при интегрированной инфекции, которые потеряли способность превращаться в полноценный вирус.

Псевдовирионы. Вирионы, имеющие нормальный капсид, содержащий часть собственной нуклеиновой кислоты и фрагменты нуклеиновой кислоты своего хозяина, либо часть хромосомы клетки хозяина и часть нуклеиновой кислоты другого вируса. Значение дефектных вирусов состоит в их способности переносить генетический материал из клетки донора в клетку реципиента.

5.3. КУЛЬТИВИРОВАНИЕ И ИНДИКАЦИЯ ВИРУСОВ

На первом этапе развития вирусологии единственным методом, доказывающим наличие фильтрующихся инфекционных агентов в исследуемом материале, служило заражение лабораторных животных. В 1931 г. в вирусологической практике стали использоваться куриные эмбрионы для репродукции вирусов с диагностическими целями, а также для производства вирусных вакцин.

Позднее были разработаны культуры клеток, приготовленные из неперевиваемых, перевиваемых и полуперевиваемых линий нормальных или злокачественных клеток людей и животных. Они нашли

широкое применение для диагностических, научных и производственных целей.

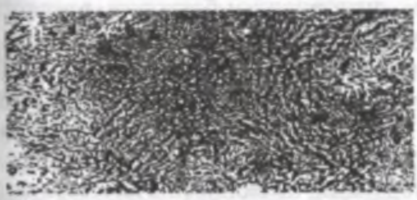
Неперевиваемые— первичные клетки не способны размножаться in vitro, вследствие чего они годятся только для однократного использования.

Полуперевиваемые культуры представляют собой диплоидные клетки человека, способные к размножению in vitro в течение 50 пассажей (до 1 года). Они, как правило, не претерпевают злокачественного перерождения.

Перевиваемые культуры злокачественных или нормальных клеток длительно размножаются in vitro. Они могут сохраняться в течение длительных сроков (десятилетиями), например культура клеток Hela и др.

Недостаток клеточных культур состоит в возможности их контаминации неизвестными вирусами и микоплазмами.

О репродукции вирусов в культурах клеток судят по их ц и т о п а т и ч е с к о м у д е й с т в и ю (ЦПД), которое носит разный характер в зависимости от вида вируса (рис. 5.10), по бляшкообразованию на клеточном монослое, покрытом тонким агаровым слоем (рис. 5.11), гемадсорбции эритроцитов и другим тестам.



а

б

Рис. 5.10. Цитопатическое действие аденовируса в культуре клеток Hela:
а — незараженная культура;
б — зараженная культура

Рис. 5.11. Бляшки вируса полиомиелита в культуре клеток почки обезьяны

Таким образом, индикация вирусов производится микроскопически по наличию ЦПД, бляшкообразованию на клеточном монослое, гемадсорбции эритроцитов, добавленных к клеточной культуре вируса, а также в реакции гемагглютинации с исследуемым вируссодержащим материалом. Реакцию гемагглютинации вызывают вирусы, содержащие в составе своего капсида или суперкапсида гемагглютинин.

5.4. ВИРУСЫ БАКТЕРИЙ (БАКТЕРИОФАГИ, ИЛИ ФАГИ)

В 1917 г. французский микробиолог Д'Эррель, изучая возбудителя дизентерии, наблюдал лизис бактериальной культуры при внесении в нее фильтрата испражнений больных людей.

Лизирующее начало сохранялось при многократном пассировании культуры дизентерийных бактерий и даже становилось более активным. Агент, растворяющий бактерии, автор называл бактериофагом («пожиратель» бактерий от лат. *phagos* — пожирающий), а действие бактериофага, заканчивающегося лизисом бактерий, — феноменом бактериофагии.

Вместе с тем Д'Эррель правильно оценил биологический смысл открытого им феномена. Он высказал предположение, что бактериофаг является инфекционным агентом, лизирующим бактерии, вследствие чего в окружающую среду поступают дочерние фаговые частицы. На твердых средах, засеянных смесью фага с бактериальной культурой, в местах лизиса бактерий появляются стерильные пятна или негативные колонии фагов. Посев этой же бактериальной культуры на жидкую среду приводит к просветлению среды. Позднее было показано, что фаги являются бактериальными вирусами, имеющими в качестве хозяев бактерии определенных видов. Номенклатура бактериофагов основана на видовом наименовании хозяина. Например, фаги, лизирующие дизентерийные бактерии, получили название *дизентерийных* бактериофагов, сальмонеллы — *сальмонеллезных* бактериофагов, дифтерийные бактерии — *дифтерийных* бактериофагов и т.д.

В истории микробиологии изучение феномена бактериофагии занимает особое место. Простота культивирования, короткий период генерации, высокий выход фагового потомства и возможность точного его количественного учета способствовали успешному изучению многих проблем молекулярной генетики и общей вирусологии. В частности, в системе фаг — бактериальная клетка впервые было открыто явление лизогении, получившее позднее название интегративной инфекции.

Структура. Большинство фагов имеют сперматозоидную форму. Они состоят из головки, которая содержит нуклеиновую кислоту, и отростка. У некоторых фагов отросток очень короткий или вовсе от-

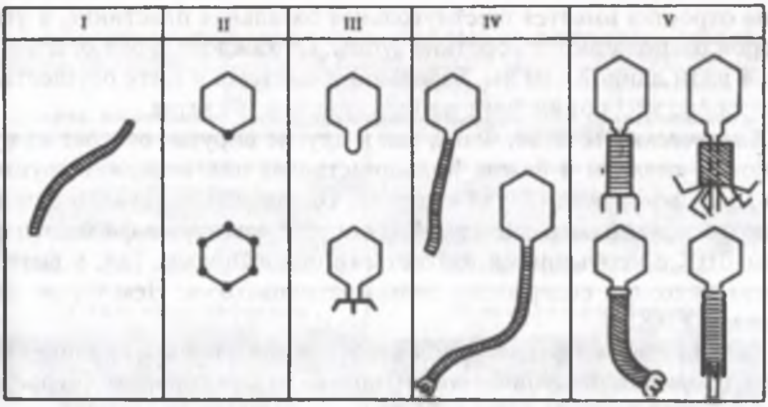


Рис. 5.12. Морфологические типы бактериофагов. Объяснения в тексте

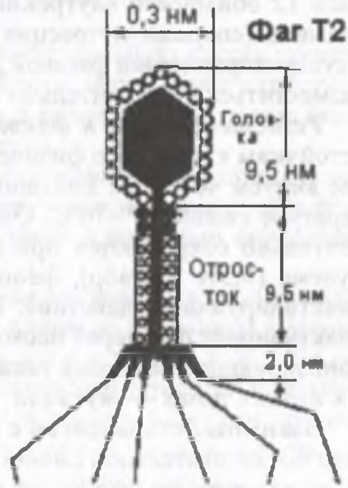


Рис. 5.13. Фаг Т2

сутствует. Размеры фаговой частицы колеблются от 20 до 200 нм. Средний диаметр головки равен 60–100 нм, длина отростка 100–200 нм.

Различают несколько морфологических типов бактериофагов (рис. 5.12). К I типу относятся нитевидные ДНК-содержащие фаги, которые лизируют клетки бактерий, несущих F-плазмиду (*см. 6.7*). II тип составляют фаги с аналогом отростка. Это мелкие РНК-содержащие фаги с однонитевой ДНК — фаг φχ174. К III типу относятся фаги Т3, Т7 с коротким отростком, к IV типу — фаги с несокращающимся чехлом отростка и двунитевой ДНК (Т1, Т5 и др.). V тип представляют ДНК-содержащие фаги с сокращающимся чехлом отростка, заканчивающимся базальной пластинкой разной формы (Т2, Т4, Т6).

Наиболее изучены Т-фаги (англ. *type* — типовые). Они составляют Т-группу коли-дизентерийных фагов, включающую 7 представителей: 4 нечетных Т1, Т3, Т5 и Т7 и 3 четных Т2, Т4, Т6. Наиболее сложной оказалась структураТ-четных фагов, в частности Т2 (рис. 5.13). Он состоит из головки гексагональной формы и отростка. Последний образован полым стержнем диаметром около 8 нм. Снаружи стержень окружен чехлом, способным к сокращению. На дистальном

конце отростка имеется шестиугольная базальная пластинка, в углах которой располагаются короткие зубцы. От каждого зубца отходит по одной нити длиной 150 нм. Базальная пластинка и нити осуществляют процесс адсорбции фага на бактериальной клетке.

Химический состав. Фаги, как и другие вирусы, состоят из нуклеиновой кислоты и белка. Большинство из них содержат двунитевую ДНК, которая замкнута в кольцо. Однако существуют и однонитевые фаги, например фаг $\varphi\chi174$. В составе некоторых фагов обнаружены ДНК с необычными азотистыми основаниями. Так, у фага Т2 вместо цитозина содержится 5-оксиметилцитозин. Некоторые фаги содержат РНК.

Капсид головки фага и чехол отростка построены из полипептидных субъединиц по кубическому (головка) и спиральному (отросток) типу симметрии.

В частицах некоторых фагов под чехлом дистальной частицы отростка (фаг Т2) содержится фермент лизоцим. Внутри головки у фага Т2 обнаружен внутренний белок, в состав которого входят полиамины (спермин, путресцин). Этот белок играет определенную роль в суперспирализации фаговой ДНК, которая только в таком виде может разместиться в сравнительно небольшой головке.

Резистентность к факторам окружающей среды. Фаги более устойчивы к действию физических и химических факторов, чем многие вирусы человека. Большинство из них инактивируются при температуре свыше 65°–70°С. Они хорошо переносят замораживание и длительно сохраняются при низких температурах и высушивании. Сулема (0,5% раствор), фенол (1% раствор) не оказывают на них инактивирующего действия. В то же время 1% раствор формалина инактивирует фаг через несколько минут. Ультрафиолетовые лучи и ионизирующая радиация также вызывают инактивирующий эффект, а в низких дозах — мутации.

Взаимодействие фагов с бактериальной клеткой характеризуется последовательной сменой тех же стадий, которые были рассмотрены для вирусов животных и человека. Однако имеются и некоторые особенности.

А д с о р б ц и я фага на бактериальной клетке происходит только при соответствии фаговых рецепторов, расположенных на конце отростка, с рецепторами бактериальной клетки, связанными с клеточной стенкой. Некоторые фаги адсорбируются на половых ворсинках (sex pili), контролируемых F- или R-плазмидами (*см. 6.7*). На бактериях, полностью лишенных клеточных стенок (протопласты), адсорбции фагов не происходит.

На адсорбцию фагов большое влияние оказывают состав и pH среды, температура, а также наличие некоторых аминокислот или других соединений, например триптофана для фага Т2.

Рис. 5.14. Созревание фага в клетке E.coli

Проникновение фага в бактериальную клетку происходит путем инъекции нуклеиновой кислоты через канал отростка. При этом в отличие от вирусов человека и животных капсидные белки головки и отростка остаются вне клетки.

Некоторые фаги вводят свою ДНК без предварительного повреждения клеточной стенки бактерий, другие — сквозь отверстия, которые они пробуравливают в клеточной стенке с помощью лизоцима, содержащегося в их капсиде.

Однонитевая ДНК фага $\varphi \div 174$, а также нуклеиновая кислота нитчатых фагов проходят в клетку вместе с одним из капсидных белков.

Репликация фаговой нуклеиновой кислоты и синтез фагоспецифических ферментов транскрипции и репликации происходят примерно так же, как и при репродукции других вирусов (рис. 5.14). Однако латентный период инфекции, т.е. время для формирования фагового потомства, значительно короче.

Сборка фаговых частиц, или морфогенез, заключается в заполнении фаговой ДНК пустотелых капсидов головки.

Выход зрелых фагов из бактериальной клетки происходит путем «взрыва», во время которого зараженные бактерии лизируются. Лизис происходит при участии фагового лизоцима либо без него. Некоторые ДНК-содержащие нитчатые фаги (например, фаг fd) освобождаются из клетки путем «просачивания» ДНК через цитоплазматическую мембрану и клеточную стенку бактерии, во время которого они приобретают капсиды. Бактериальная клетка при этом сохраняет свою жизнеспособность.

Лизогения. Наряду с описанным продуктивным типом взаимодействия бактериального вируса с клеткой хозяина, заканчивающего-

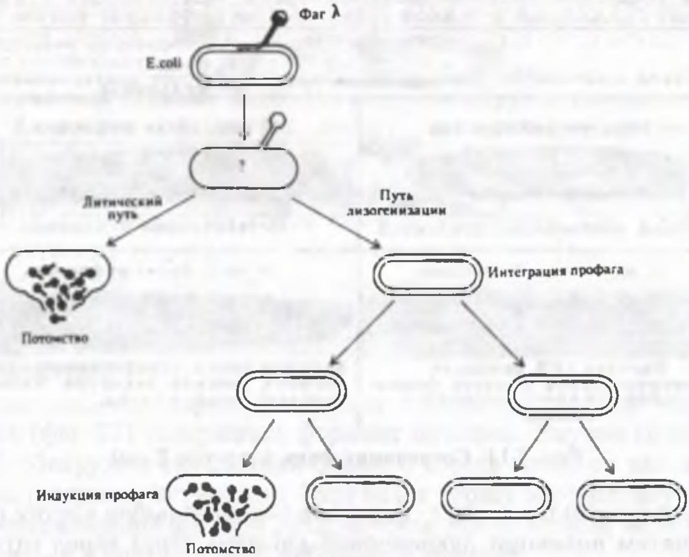


Рис. 5.15. Продуктивная фаговая инфекция и лизогенизация бактерий (интегративная инфекция)

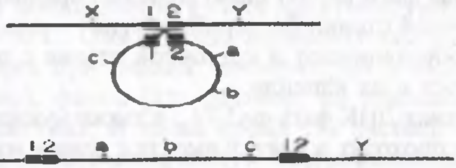


Рис. 5.16. Модель включения циркулярной ДНК фага ламда в бактериальную хромосому

ся образованием фагового потомства и лизисом бактерий, это взаимодействие может происходить по интегративному типу. Фаги, вызывающие данный тип инфекции, получили название *умеренных*. Они отличаются от *вирулентных* тем, что встраивают свою ДНК в бактериальный геном, с которым реплицируются. Фаговая ДНК, ассоциированная с геномом своего хозяина, носит название *профага* (рис. 5.15, 5.16). Бактериальные клетки, содержащие профаг, называются *лизогенными*, а само явление — *лизогенией*. Это название отражает потенциальную способность лизогенных бактерий к лизису при освобождении профага из состава бактериального генома и перехода в вирулентный фаг, способный репродуцироваться.

Спонтанный лизис нередко происходит в отдельных клетках популяции лизогенных бактерий, но не захватывает все клетки. Это

связано со способностью лизогенных бактерий приобретать иммунитет к последующему заражению одноименным фагом, вследствие чего остальные лизогенные клетки, содержащиеся в бактериальной популяции, полностью сохраняют свою целостность и жизнеспособность.

Продукция фагов лизогенными бактериями значительно увеличивается при их облучении суббактерицидными дозами УФ-лучей или обработке некоторыми химическими соединениями, взаимодействующими с их ДНК. Данный феномен называется индукцией профага.

Как уже отмечалось, наличие профага в составе бактериального генома не мешает репликации ДНК бактериальной клетки и самого профага. Однако гены профага самостоятельно не транскрибируются, что связано с образованием репрессора — низкомолекулярного белка, блокирующего данный процесс. Синтез репрессора контролируется генами профага. При инактивации репрессора УФ-облучением профаг выходит из состава бактериального генома и превращается в вирулентный фаг, вызывающий продуктивную инфекцию.

Лизогенизация лежит в основе фаговой или лизогенной конверсии. Она заключается в изменении свойств у лизогенных бактерий, например в приобретении способности продуцировать токсин, изменять морфологию, антигенные свойства и другие признаки. Механизм этого явления связан с внесением новой информации в бактериальную клетку.

Умеренные фаги могут быть дефектными, т.е. неспособными образовывать фаговое потомство, например, трансдуцирующие фаги (*см. 5.4*). Их используют в качестве векторов в генной инженерии.

Практическое применение бактериофагов. Строгая специфичность бактериофагов позволяет использовать их для фаготипирования и дифференцировки бактериальных культур, а также для индикации их во внешней среде, например в водоемах.

Метод фаготипирования бактерий широко применяется в микробиологической практике. Он позволяет не только определить видовую принадлежность исследуемой культуры, но и ее фаготип (фаговар). Это связано с тем, что у бактерий одного и того же вида имеются рецепторы, адсорбирующие строго определенные фаги, которые затем вызывают их лизис. Использование наборов таких типоспецифических фагов позволяет проводить фаготипирование исследуемых культур с целью эпидемиологического анализа инфекционных заболеваний: установления источника инфекции и путей ее передачи.

Кроме того, по наличию фагов во внешней среде (водоемах) можно судить о содержании в них соответствующих бактерий, представляющих опасность для здоровья человека. Данный метод индикации патогенных бактерий также применяется в эпидемиологической прак-

тике. Его эффективность повышается при постановке реакции нарастания титра фага, которая основана на способности специфических линий фагов репродуцироваться на строго определенных бактериальных культурах. При внесении такого фага в исследуемый материал, содержащий искомый возбудитель, происходит нарастание его титра. Широкое использование реакции нарастания титра фага осложняется трудностью получения индикаторных наборов фагов и другими причинами.

Применение фагов с лечебными и профилактическими целями проводится сравнительно редко. Это связано с большим количеством отрицательных результатов, которые объясняются следующими причинами:

1) строгой специфичностью фагов, лизирующих только те клетки бактериальной популяции, которые снабжены соответствующими рецепторами, вследствие чего фагорезистентные особи, имеющиеся в каждой популяции, полностью сохраняют свою жизнеспособность;

2) широким применением более эффективных этиотропных средств — антибиотиков, не обладающих специфичностью бактериофагов.

В нашей стране выпускаются препараты дизентерийного, сальмонеллезных, коли-протейного, стафилококкового и других бактериофагов, а также наборы для фаготипирования брюшнотифозных бактерий, стафилококков и др. Последние широко применяются с эпидемиологическими целями для установления источника инфекции. Так, например, в случае выделения от разных больных бактериальных культур, принадлежащих не только к одному виду, но и к одному фаготипу, можно считать, что они заразились из одного и того же источника инфекции. В случае выделения разных фаготипов следует искать несколько источников инфекции.

В настоящее время препараты бактериофагов применяются для лечения дизентерии, сальмонеллеза, гнойной инфекции, вызванных антибиотико-резистентными бактериями. При этом в каждом случае предварительно определяют чувствительность выделенных возбудителей к данному препарату бактериофага.

Сальмонеллезные фаги применяются для профилактики одноименного заболевания в детских коллективах.

5.5. ПРИОНЫ

Белковые молекулы определенной структуры, способные индуцировать деструктивные процессы в клетках организма человека и животных, принципиально отличаются от всех известных микроорганизмов устойчивостью к высоким температурам, ионизирующей радиации, ультрафиолету и другим экстремальным воздействиям. Они

чувствительны к фенолу и детергентам при нагревании. Прионы могут персистировать в организме человека в течение длительного времени, не вызывая ни клеточного, ни гуморального иммунного ответа. Они не являются индукторами интерферона и не чувствительны к нему. При накоплении в клетках прионов происходит кристаллизация прионовых белков, сопровождающаяся разрушением клеток. Прионы являются возбудителями медленных инфекций (*см. стр. 597*), они существуют в двух формах — нормальной и патогенной. В первом случае они являются естественным компонентом клеток здорового организма, вследствие чего принимают участие в механизме старения мозга и нервной системы.

Полагают, что прионы размножаются путем удвоения патогенных форм после их контакта с нормальными. При этом последние превращаются в непатогенные, число которых постоянно увеличивается. Возможно, что прионный белок является естественным компонентом клеток здорового организма и принимает участие в механизмах старения мозга и клеток нервной системы.

Вопросы для самоконтроля

1. Какие признаки лежат в основе систематики вирусов и в чем их отличие от прокариотов?
2. Каковы особенности химического состава (нуклеиновые кислоты, белки, липиды, полисахариды) и структурной организации вирионов?
3. Дайте характеристику каждой стадии взаимодействия вируса с клеткой хозяина.
4. Каковы механизмы обратной транскрипции и последствия вирогении?
5. Каковы особенности организации бактериофагов и последствия их взаимодействия с клеткой хозяина?
6. Каковы особенности вирусных структурных белков?
7. Дайте характеристику двум типам взаимодействия вируса с клеткой хозяина.
8. Какие бактерии относят к лизогенным?
9. Какие фаги называют умеренными и вирулентными?
10. Каковы методы культивирования вирусов?
11. Какие признаки отличают продуктивную инфекцию от интегративной?
12. Что представляют собой прионы? Их химический состав и свойства.

ГЛАВА 6

ГЕНЕТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ

Огромное значение в становлении и развитии молекулярной генетики имел выбор бактерий и вирусов в качестве основных модельных систем для изучения общегенетических закономерностей. Упомянутые микроорганизмы в отличие от такого классического объекта, как мушка дрозофила, обладают уникальными для генетических экспериментов свойствами.

1. Гаплоидностью, т.е. наличием одной хромосомы, что устраняет явление доминантности.

2. Высокой скоростью размножения обеспечивающей получение в лабораторных условиях многомиллиардных популяций в течение нескольких часов.

3. Высокой разрешающей способностью методов генетического анализа бактерий и вирусов, позволяющей обнаружить их мутанты с частотой 10^{-9} и ниже.

4. Половой дифференциацией, заключающейся в существовании донорных и реципиентных бактериальных клеток, соответственно отдающих или воспринимающих генетическую информацию.

5. Наличием у бактерий обособленных фрагментов ДНК — плазмид, транспозонов и Is-последовательностей.

Современные достижения молекулярной генетики связаны также с разработкой методов генной инженерии — изолирования и переноса отдельных генов из одних клеток прокариот или эукариот в другие. Это создало поистине фантастические перспективы для получения ранее неизвестных генотипов, прежде всего среди бактерий и вирусов, и заложило основу новейшей биотехнологии производства вакцин, интерферона, гормонов и других биологически активных веществ.

Следующий этап в развитии медицинской микробиологии связан с открытием молекулярно-генетических закономерностей формирования новых разновидностей и видов патогенных микроорганизмов. Это даст возможность прогнозировать их появление и распространение

среди населения разных регионов нашей планеты и своевременно проводить соответствующие противоэпидемические мероприятия.

6.1. ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА У БАКТЕРИЙ. ГЕНОТИП, ФЕНОТИП БАКТЕРИЙ И ГЕНОФОНД ИХ ПОПУЛЯЦИЙ

Материальной основой наследственности, определяющей генетические свойства всех организмов, в том числе бактерий и вирусов, является ДНК. Исключение составляют только РНК-содержащие вирусы, у которых генетическая информация закодирована в РНК. Однако в отличие от хромосомы эукариот гены прокариот организованы в более простую структуру, представляющую собой молекулу ДНК, часто замкнутую в кольцо. Молекулярная масса ДНК у бактерий сравнительно велика: у E. coli она равна $2 \cdot 10^9$.

Наряду с описанной структурой, называемой бактериальной хромосомой, или нуклеоидом, генетический материал у бактерий содержится во внехромосомных генетических элементах — плазмидах, которые могут находиться в автономном состоянии в цитоплазме клетки.

Гены, ответственные за синтез того или иного соединения, принято обозначать строчными буквами латинского алфавита, соответствующими названию данного соединения со знаком «+». Например, his^+ — гистидиновый ген, leu^{++} — лейциновый ген и т.д. Гены, контролирующие резистентность к лекарственным препаратам, фагам, ядам, обозначают буквой *r* (*resistent* — резистентный). Например, резистентность к стрептомицину записывается знаком str^r, а чувствительность str^s. Фенотип бактерий обозначают теми же знаками, что и генотип, но с прописной буквы.

Генотип микроорганизмов представлен совокупностью генов, определяющих его потенциальную способность к фенотипическому выражению записанной в них информации в виде определенных признаков. Условия окружающей среды способствуют проявлению (экспрессии) генов или, наоборот, подавляют их функциональную активность, выраженную в образовании определенных ферментов. У бактерий, имеющих определенный набор генов, функцию каждого из них определяют не прямым, а косвенным путем на основании изменения или утраты соответствующего признака при утрате какого-либо участка ДНК. Таким образом, заключение о функции гена делают на основании результатов сравнительного изучения признака присущего исходному генотипу и штамму с мутировавшим геном. В генетических исследованиях мутировавшие гены служат м а р к е р а м и,

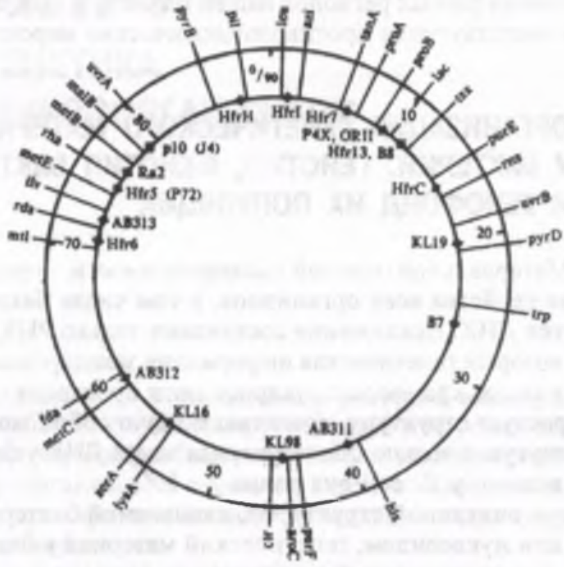


Рис. 6.1. Генетическая карта хромосомы E.coli. Стрелками указано направление переноса хромосомы разных Hfr-штаммов

которые дают возможность судить об их передаче и функционировании. Сцепленность таких маркеров с другими генами устанавливается путем их передачи от донорных к реципиентным клеткам в опытах трансформации трансдукции и конъюгации. Это позволяет установить их локализацию на бактериальной хромосоме и составить генетическую карту (рис. 6.1).

6.2. ВНЕХРОМОСОМНЫЕ ФАКТОРЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

Внехромосомные факторы наследственности входят в состав многих микроорганизмов, особенно бактерий. Они представлены плазмидами, транспозонами и Is-последовательностями (англ. *insertion* — вставка, *sequence* — последовательность), которые являются молекулами ДНК, отличающимися друг от друга молекулярной массой, объемом закодированной в них информации, способностью к автономной репликации и другими признаками.

Плазмиды, транспозоны и Is-последовательности не являются генетическими элементами, жизненно необходимыми для бактериаль-

ной клетки, поскольку они не несут информации о синтезе ферментов, участвующих в пластическом или энергетическом метаболизме. Вместе с тем они могут придавать бактериям определенные селективные преимущества, например резистентность к антибиотикам.

Плазмиды физически либо не связаны с хромосомой (автономное состояние), либо встроены в ее состав (интегрированное состояние). В автономном состоянии они самостоятельно реплицируются. Транспозоны и Is-последовательности во всех случаях связаны с хромосомой и не способны к самостоятельной репликации.

6.2.1. Плазмиды

Плазмиды несут две функции — р е г у л я т о р н у ю и к о д и р у ю щ у ю. Первая состоит в компенсации нарушений метаболизма ДНК клетки хозяина. Например, при интегрировании плазмиды в состав поврежденного бактериального генома, не способного к репликации его функция восстанавливается за счет плазмидного репликона.

Кодирующая функция плазмид состоит во внесении в бактериальную клетку новой информации, о которой судят по приобретенному признаку, например образованию пилей (F-плазмида), резистентности к антибиотикам (R-плазмида), выделению бактериоцинов (Col-плазмида) и т.д.

Переход плазмиды в автономное состояние и реализация записанной в ней информации часто связаны с индуцирующими воздействиями внешней среды. В некоторых случаях продукты плазмидных генов могут способствовать выживанию несущих их бактерий. Самостоятельная репликация плазмидной ДНК способствует ее сохранению и распространению в потомстве. Встраивание плазмид, так же как и профагов, происходит только в гомологичные участки бактериальной хромосомы, в то время как Is-последовательностей и транспозонов — в любой ее участок.

В настоящее время описано свыше двух десятков плазмид, из которых будут рассмотрены следующие.

F-плазмида, или половой фактор, представляет собой циркулярно замкнутую нить ДНК с молекулярной массой $60 \cdot 10^6$. Она контролирует синтез половых ворсинок (sex или F-pili), которые способствуют эффективному спариванию бактерий-доноров с реципиентными клетками при конъюгации. Данная плазмида реплицируется в независимом от хромосомы состоянии и передается при конъюгации в клетки бактерий-реципиентов.

Перенос генетического материала (ДНК) детерминируется *tra*-опероном F-плазмиды (от англ. *transfer* — перенос), обеспечивающим ее конъюгативность. F-плазмиду можно удалить (элиминировать) из

клетки, обработав последнюю некоторыми веществами, например акридиновым оранжевым, в результате чего клетки теряют свойства донора. Сравнительно легкая элиминация и очень быстрая и эффективная передача F-плазмиды реципиентным клеткам дали основание считать, что она располагается в цитоплазме бактерий вне хромосомы. Однако F-плазмида может встраиваться в бактериальную хромосому и находиться с ней в интегрированном состоянии.

R-плазмиды. Известно большое количество R-плазмид, определяющих устойчивость бактерий-хозяев к разнообразным лекарственным препаратам. Передача R-плазмид от одних бактерий к другим привела к их широкому распространению среди патогенных и условно-патогенных бактерий, что чрезвычайно осложнило химиотерапию вызываемых ими заболеваний.

R-плазмиды имеют сложное молекулярное строение. В их состав входят: r-ген, который может содержать более мелкие мигрирующие элементы — Is-последовательности, транспозоны и *tra*-опероны.

R-ген, ответственный за устойчивость бактерий к какому-либо антибиотику, контролирует синтез фермента, вызывающего его инактивацию или модификацию (*см. 8.3*). Значительное число r-генов является транспозонами, которые могут перемещаться от плазмиды-носителя в другие репликоны. В одном r-гене может содержаться несколько транспозонов, контролирующих устойчивость к разным антибиотикам. Этим объясняется множественная лекарственная резистентность бактерий.

Tra-оперон, обеспечивающий конъюгативность плазмиды, входит в состав R-плазмид грамотрицательных бактерий. Грамположительные бактерии содержат в основном неконъюгативные плазмиды, которые могут передаваться от одной бактерии к другой путем трансдукции.

Плазмиды патогенности. Данные плазмиды контролируют вирулентные свойства бактерий и токсинообразование. Они будут описаны в части «Учение об инфекции» (*см. 10.2*).

Бактериоциногенные плазмиды контролируют синтез особого рода антибактериальных веществ — б а к т е р и о ц и н о в, способных вызывать гибель бактерий того же вида или близких видов. Бактериоцины обнаружены у кишечных бактерий (колицины), бактерий чумы (пестицины), холерных вибрионов (вибриоцины), стафилококков (стафилоцины) и др. Наиболее изучены колицины, продуцируемые кишечными палочками, шигеллами и некоторыми другими энтеробактериями.

Колицины энтеробактерий (продуцируемые под контролем колициногенных плазмид) представляют собой вещества белковой природы. Известно более 25 типов колицинов, различающихся по своим физико-химическим и антигенным свойствам и по способности адсорбиро-

ваться на определенных участках поверхности бактериальных клеток. Они обозначаются латинскими буквами A, B, C, D, E1, E2, K и т.д.

При обычных условиях культивирования и большинстве клеток бактериальной популяции, содержащей колициногенные особи, синтеза колицина не происходит. Примерно в одной из 1000 клеток отмечается так называемая спонтанная продукция колицина. Однако количество колицинпродуцирующих клеток может быть резко увеличено при обработке бактерий УФ-лучами и некоторыми другими агентами. При этом погибают только сами клетки, продуцирующие колицины. В то же время бактериальные клетки, несущие Col-плазмиды, резистентны к действию гомологического колицина так же, как и лизогенные бактерии к действию гомологического фага. Таким образом, характерной чертой Col-плазмид является потенциальная летальность для клеток-продуцентов, которая сближает их с профагами (*см.* 5.4).

Механизм бактерицидного действия колицинов неодинаков. Показано, что после адсорбции на рецепторах наружной мембраны бактерий один из колицинов (E3) нарушает функцию рибосом, другой (E2) является ферментом — эндодезоксирибонуклеазой. Имеются колицины, действующие на цитоплазматическую мембрану бактерий.

Колициногенные (Col) плазмиды находятся в клетках энтеробактерий в автономном состоянии и передаются при конъюгации без сцепления с хромосомой. Однако некоторые из них (ColV, ColB) могут встраиваться в бактериальную хромосому и находиться в ней в интегрированном состоянии. Они, так же как и F-плазмиды, передаются путем конъюгации в реципиентные клетки, благодаря имеющемуся у них *tra*-оперону.

Широкое распространение бактериоциногении среди микрофлоры организма человека имеет экологическое значение как один из факторов, влияющих на формирование микробных биоценозов. Вместе с тем колицины, продуцируемые кишечной палочкой — нормальным обитателем кишечника, могут губительно действовать на патогенные энтеробактерии, попавшие в кишечник, способствуя тем самым нормализации его естественного микробиоценоза.

Способность продуцировать различные типы колицинов используется для типирования бактерий с целью эпидемиологического анализа вызываемых ими заболеваний. Такое типирование осуществляется путем определения типа Col-плазмиды (колициногенотипирование) или типа колицина, образуемого патогенными бактериями (колицинотипирование), выделенными от больных, контактирующих с ними лиц, а также из окружающей среды.

Плазмиды биодеградации. Данные плазмиды несут информацию об утилизации некоторых органических соединений, которые бактерии используют в качестве источников углевода и энергии. Они могут играть важную роль в экологии патогенных бактерий, обеспечи-

вая им селективные преимущества во время пребывания в объектах окружающей среды и в организме человека. Например, урологические штаммы кишечных палочек содержат плазмиду гидролизации мочевины.

Плазмиды биодеградации несут информацию об утилизации ряда сахаров (лактоза, сахароза, рафиноза и др.) и образовании протеолитических ферментов.

6.2.2. Транспозоны

Транспозоны представляют собой нуклеотидные последовательности, включающие от 2000 до 20 500 пар нуклеотидов, которые несут генетическую информацию, необходимую для транспозиции. При включении в бактериальную ДНК они вызывают в ней дупликации, а при перемещении — делеции и инверсии. Транспозоны могут находиться в свободном состоянии в виде кольцевой молекулы, неспособной к репликации. Она реплицируется только в составе бактериальной хромосомы. При этом новые копии транспозонов могут мигрировать в некоторые плазмиды и ДНК фагов, которые, проникая в бактериальные клетки, способствуют их распространению в популяции. Таким образом, важнейшим свойством транспозонов является их способность к перемещению с одного репликона (хромосомная ДНК) на другой (плазмида) и наоборот. Кроме того, некоторые транспозоны, так же как и плазмиды, выполняют регуляторную и кодирующую функции. В частности, они могут нести информацию для синтеза бактериальных токсинов, а также ферментов разрушающих или модифицирующих антибиотики.

Транспозоны имеют особые концевые структуры нескольких типов, которые являются маркерами, позволяющими отличать их от других фрагментов ДНК. Это позволило обнаружить их не только у бактерий и дрожжей, но и в клетках растений, насекомых, позвоночных животных и человека. При интеграции транспозонов в хромосому клеток животных или человека они приобретают удивительное сходство с провирусами (*см. 5.2.2*), находящимися в составе их хромосом.

6.2.3. Is-последовательности

Is-последовательности (англ. *insertion* — вставка, *sequence* — последовательность) представляют собой транспозируемые элементы, которые также называются «вставки последовательностей оснований». Это фрагменты ДНК длиной 1000 пар нуклеотидов и более.

В Is-последовательностях содержится информация, необходимая только для их транспозиции, т.е. перемещения в различные участки ДНК.

Вследствие такого рода перемещений Is-последовательности могут выполнять ряд функций.

1. Координировать взаимодействие транспозонов, плазмид и умеренных фагов как между собой, так и с хромосомой бактериальной клетки и обеспечивать их рекомбинацию.

2. Вызывать инактивацию гена, в которой произошла интеграция Is-последовательности («выключение» гена), либо, будучи встроенными в определенном положении в бактериальную хромосому, служить промотором (участками ДНК, регулирующих экспрессию подлежащих структурных генов бактерий-реципиентов), который включает или выключает транскрипцию соответствующих генов, выполняя регуляторную функцию.

3. Индуцировать мутации типа делеций или инверсий при перемещении и дупликации в 5–9 парах нуклеотидов при включении в бактериальную хромосому.

В свободном состоянии Is-последовательности не обнаружены, что свидетельствует об их неспособности реплицироваться самостоятельно.

6.2.4. Умеренные и дефектные фаги

Факторами изменчивости бактерий могут быть умеренные или дефектные фаги (*см. 5.4*), которые напоминают по своим свойствам плазмиды бактерий. Встраиваясь в хромосому, эти фаги вызывают лизогенизацию бактерий, которые могут приобретать новые признаки.

Изменчивость лизогенных бактерий связана либо с приобретением генов, переносимых данными фагами от их предыдущих хозяев (бактерий-доноров), либо с экспрессией «молчащих» генов бактерий-реципиентов. В последнем случае фаговая ДНК, встраиваясь вблизи поврежденного промотора, заменяет его. При этом синтезируются определенные продукты, например протоксины дифтерийных бактерий, ряда клостридий и др. (*см. 10.2*).

6.3. МОДИФИКАЦИИ

Фенотипические изменения какого-либо признака или нескольких признаков микроорганизма называют модификациями. В отличие от мутаций они, хотя и находятся под контролем генома, не сопровождаются изменениями первичной структуры ДНК и вскоре утрачиваются.

Модификации возникают как адаптивные реакции отдельных микробных клеток или всей популяции в целом в ответ на изменяющиеся условия окружающей среды. Такого рода изменчивость позволяет мик-

робным популяциям быстро адаптироваться к окружающей среде и сохранять на должном уровне свою жизнеспособность (*см. 6.9*).

Модификации проявляются в изменении морфологических, биохимических и многих других признаков с последующей их реверсией к первоначальному фенотипу после устранения действия фактора, вызвавшего их образование, поскольку исчезает потребность в сохранении данной модификации.

Биохимическую основу модификации составляет индуцибельный синтез ферментов, заключающийся в индукции и репрессии соответствующих структурных генов, контролируемых регуляторными генами. Так, например, кишечная палочка только в присутствии лактозы синтезирует ферменты, необходимые для ее ферментации. Стафилококки только в присутствии пенициллина синтезируют фермент, разрушающий данный антибиотик.

К модификациям можно отнести включение «молчащих» генов (без их перестройки) некоторых микроорганизмов, в результате чего происходит смена их антигенов (*см. 13.3*) в ходе инфекционного заболевания.

К модификациям можно отнести также запрограммированные изменения генетической информации, в основе которых лежат миграции гена на хромосоме и встраивание его с разной частотой в определенные локусы, в результате чего происходит изменение признаков. Существует и механизм возврата гена к исходной локализации, что приводит к восстановлению этого признака. К модификациям такого рода относятся изменения антигенной структуры гонококка, трепонемы сифилиса, боррелий возвратного тифа, холерного вибриона.

Модификации могут возникать под непосредственным действием антибиотиков, например пенициллина. Образующиеся при этом L-формы бактерий, лишенные клеточной стенки, могут сохраняться и даже размножаться внутри клеток хозяина и вновь реверсировать к исходной форме после прекращения действия пенициллина. При выращивании многих бактерий на питательной среде с суббактериостатическими концентрациями антисептиков также можно получить их модификации, характеризующиеся изменением морфологических или других признаков.

6.4. МУТАЦИИ

Мутации представляют собой изменения в первичной структуре ДНК, которые выражаются в наследственно закрепленной утрате или изменении какого-либо признака (признаков).

Мутации можно классифицировать по происхождению, характеру изменений в первичной структуре ДНК, фенотипическим по-

следствиям для мутировавшей бактериальной клетки и другим признакам.

По происхождению мутации можно условно подразделить на спонтанные и индуцированные. Первые составляют естественный, или спонтанный, фон, величина которого колеблется в зависимости от типа мутации и вида микробной популяции. Они появляются в микробных популяциях in vitro и in vivo (в естественных биотопах организма человека) под влиянием самых разнообразных причин и событий, например ошибок в работе репарирующих ферментов (*см. 6.6*), или ДНК-полимеразы во время репликации ДНК. Мутации происходят в результате ошибочного включения в синтезируемую дочернюю цепь вместо одного азотистого основания другого, некомплементарного имеющегося в родительской цепи, например вместо аденина, комплементарного тимину, гуанина или цитозина.

Причиной изменения естественного фона могут быть инсертационные мутации (англ. *insertion* — вставка), которые возникают при встраивании в хромосому микробной клетки Is-последовательностей, транспозонов и плазмид. При этом фенотип мутации зависит от места их интеграции: если она происходит вблизи промотора, то нарушается функция регуляторного гена, а вблизи структурного гена — синтез закодированного в нем продукта. При наличии у бактерий генов-мутаторов частота мутаций увеличивается в 100 и более раз.

Индуцированными называют мутации, которые получают в эксперименте под влиянием каких-либо мутагенов.

По количеству мутировавших генов различают генные и хромосомные мутации. Первые затрагивают один ген и чаще всего являются точковыми, вторые распространяются на несколько генов.

Точковые мутации представляют собой замену или вставку пары азотистых оснований в ДНК, которая приводит к изменению одного кодона, вследствие чего вместо одной аминокислоты кодируется другая либо образуется бессмысленный кодон, не кодирующий ни одну из аминокислот. Последние называют нонсенс мутациями.

Мутации со вставками или выпадениями одной пары азотистых оснований ведут к изменению всех последующих кодонов. Такие мутации называются мутациями со сдвигом считывания. Они также затрагивают один ген.

У микроорганизма, несущего точковую мутацию в одном гене, может возникнуть вторичная мутация в этом же гене, в результате которого произойдет восстановление дикого фенотипа. При этом первичную мутацию, которая привела к возникновению мутантного фенотипа, называют прямой, а мутацию, обусловившую возврат к дикому фенотипу, — обратной. Это может произойти, если пря-

мое мутационное изменение состоит в простой замене пары оснований в первично мутировавшем гене. Так, если прямая мутация — результат замены пары АТ на ГЦ, то обратная мутация — результат замены пары ГЦ на АТ.

При истинной реверсии восстанавливается не только фенотип, но и генотип. Восстановление одного фенотипа может произойти и в результате супрессии, т.е. подавления мутантного фенотипа, которое выражается в исправлении мутационного изменения. Так, например, если при первой мутации произошла вставка или выпадение пары нуклеотидов в одном из участков ДНК одного и того же гена, а в другом мутация противоположного рода (выпадение или вставка), то правильность считывания информации восстанавливается. Такая супрессия называется внутригенной.

При внегенной супрессии вторичные мутации, подавляющие выражение первичного мутационного изменения, локализованы в так называемых генах-супрессорах, кодирующих синтез транспортных РНК (*т*РНК). Мутации в таком виде могут привести к изменению *т*РНК, в результате чего в синтезируемый полипептид доставляется нужная аминокислота. При этом происходит восстановление фенотипа, но не генотипа.

Хромосомные мутации носят характер крупных перестроек в отдельных фрагментах ДНК. Они возникают в результате выпадения меньшего или большего числа нуклеотидов (делеция), либо поворота участка ДНК на 180° (инверсия), либо повторения какого-либо фрагмента ДНК (дупликация). Один из механизмов образования хромосомных мутаций связан с перемещением Is-последовательностей и транспозонов из одного участка ДНК в другой или из репликона в репликон (из хромосомы в плазмиду и наоборот).

В результате возникает мутация, так как функция гена при включении транспозируемого элемента нарушается. При перемещении они могут вызывать делеции или инверсии генетического материала, а при включении в новый участок ДНК — дупликации в 6–9 пар нуклеотидов.

По фенотипическим последствиям мутации подразделяют на нейтральные, условно-летальные и летальные. Нейтральные мутации фенотипически не проявляются какими-либо изменениями признаков, поскольку они заметно не отражаются на функциональной активности синтезируемого фермента.

Мутации, которые приводят к изменению, но не к утрате функциональной активности фермента, называют условно-летальными. В зависимости от условий окружающей среды микроорганизмы могут сохранять свою жизнеспособность или, наоборот, утрачивать ее. Так, например, ts-мутанты (температурочувствительные) бактерий сохраняют способность к синтезу ферментов функциониру-

ющих при 37°С, но утрачивают этот признак при 42°С. В то же время у бактерий дикого типа соответствующие ферменты активны при обеих температурах.

Летальные мутации характеризуются полной утратой способности синтезировать жизненно важный для бактериальной клетки фермент или ферменты. Чаще всего эти мутации возникают при обширных делециях, захватывающих группу генов, или при других видах хромосомных мутаций. К ним относятся также мутации в генах, несущих информацию о синтезе ДНК-полимераз.

Мутации проявляются в фенотипе в виде утраты или изменения морфологических и биохимических признаков, например жгутиков, пилей, капсулы, клеточной стенки; способности ферментировать какие-либо углеводы, синтезировать определенные аминокислоты, витамины и другие соединения, возникновении устойчивости к лекарственным или дезинфицирующим веществам и т.д.

Мутанты, нуждающиеся в определенных аминокислотах, азотистых основаниях, ростовых факторах, называются ауксотрофными. Они могут сохранять способность к росту лишь в том случае, если утрата соответствующего фермента (ферментов) компенсируется наличием в среде готового продукта, образуемого при его непосредственном участии.

6.5. R–S-ДИССОЦИАЦИИ

Своеобразной формой изменчивости является R–S-диссоциация бактерий. Она возникает спонтанно вследствие образования двух форм бактериальных клеток, которые отличаются друг от друга по характеру образуемых ими колоний на твердой питательной среде. Один тип — R-колонии (англ. *rough* — неровный) — характеризуется неровными краями и шероховатой поверхностью, второй тип — S-колоний (англ. *smooth* — гладкий) — имеет круглую форму, гладкую поверхность. Процесс диссоциации, т.е. расщепления бактериальных клеток, формирующих оба типа колоний, обычно протекает в одном направлении: от S- к R-форме, иногда через промежуточные стадии образования слизистых колоний. Обратный переход R- в S-форму наблюдается реже. Для большинства вирулентных бактерий характерен рост в виде S-формы колоний. Исключение составляют микобактерии туберкулеза, иерсинии чумы, сибиреязвенные бактерии и некоторые другие, которые растут в R-форме.

В процессе диссоциации одновременно с изменением морфологии колоний меняются биохимические, антигенные (*см. главу 13*), патогенные свойства бактерий, их устойчивость к физическим и химическим факторам внешней среды.

Мутации, которые приводят к S–R-диссоциации, относятся к инсертационным, поскольку они возникают после встраивания внехромосомных факторов наследственности, в том числе и умеренных фагов в бактериальную хромосому. Если эта мутация приводит к утрате генов, контролирующих образование детерминантных полисахаридных звеньев ЛПС у грамотрицательных бактерий, то образуются R-мутанты. Они формируют шероховатые колонии, изменяют свои антигенные свойства и резко ослабляют патогенность. У дифтерийных бактерий S–R-диссоциация связана с их лизогенизацией соответствующими бактериофагами. При этом R-формы образуют токсин. У других бактерий R-формы возникают после интеграции в их хромосому R-плазмиды, транспозонов или Is-последовательностей. R-формы пиогенных стрептококков и ряда других бактерий образуются в результате рекомбинаций.

Биологическое значение S–R-диссоциации состоит в приобретении бактериями определенных селективных преимуществ, обеспечивающих их существование в организме человека или во внешней среде. К ним относится более высокая устойчивость S-форм к фагоцитозу макрофагами, бактерицидному действию сыворотки крови. R-формы обладают большей устойчивостью к факторам окружающей среды. Они более длительное время сохраняются в воде, молоке.

Вместе с тем S–R-диссоциация во многих случаях усложняет бактериологическую диагностику ряда инфекционных заболеваний, например дизентерии Зонне, эшерихиоза, вызванного E. coli O124 и др.

6.6. МУТАГЕНЫ

К мутагенам относят химические вещества или физические факторы (УФ-лучи, радиация), вызывающие предмутационные повреждения в отдельном фрагменте или фрагментах ДНК, которые переходят в мутацию в результате ошибок в работе репарирующих ферментов (*см. 6.6*) или в процессе репарации.

По механизму действия на ДНК микробных клеток мутагены отличаются друг от друга. Действие одних приводит к изменениям первичной структуры ДНК, путем замены пар оснований (АТ на ГЦ или наоборот). Так, аналог тимина — 5-бромурацил, отличающийся от него лишь наличием атома Br на месте CH_3-группы, спаривается не с аденином, как тимин, а с гуанином. При воздействии азотистой кислоты, вызывающей дезаминирование азотистых оснований, цитозин превращается в урацил, а аденин в гипоксантин. Поскольку в последующем урацил спаривается с аденином, а не с гуанином, как цитозин, происходит замена ГЦ на АТ.

Другие мутагены, например акридиновые красители, непосредственно комплексируются с ДНК, вызывая выпадения или вставки оснований.

Третьи мутагены — нитрозосоединения (нитрозогуанин, нитрозомочевина и др.) — обладают множественным эффектом, вызывая при этом высокую частоту мутаций, за что получили название супермутагенов.

Из физических факторов для индукции мутаций у микроорганизмов чаще всего используют УФ-облучение, которое приводит к образованию тиминовых димеров в ДНК, т.е. весьма прочных связей между соседними тиминами в одной и той же цепи, которые препятствуют работе ДНК-полимеразы, нарушая тем самым процесс репликаци ДНК.

Мутагены не обладают специфическим действием, так как они могут вызвать изменение в любом гене, содержащемся в геноме микробной клетки. К мутагенам, увеличивающим естественный фон мутаций в разных биотопах организма человека, можно отнести некоторые продукты микробного метаболизма (перекиси и др.).

Некоторые химиотерапевтические препараты, например производные нитрофуранового ряда, также обладают мутагенным действием. Антибиотики сами по себе не являются мутагенными. Однако при воздействии на метаболизм нуклеиновых кислот бактерий некоторые из них могут вызывать предмутационные повреждения.

6.7. РЕПАРАЦИИ

Клеточный геном (ДНК) не является пассивной мишенью, подвергаемой действию мутагенных факторов. В исследованиях с бактериями было установлено, что они обладают специальными системами, восстанавливающими повреждения генетического материала. Эти системы получили название *репарационных*, а сам процесс восстановления клеточного генома (ДНК) — *репараций*. Способность бактериальных клеток к репарациям обусловливает относительную стабильность их ДНК. Репарация поврежденной ДНК осуществляется ферментами, образование которых контролируется специальными генами. Функции многочисленных репаративных ферментов заключаются в установлении места повреждения ДНК, его «вырезании», синтезе поврежденных фрагментов на матрице сохранившейся нити ДНК, ее встраивании в молекулу репарируемой нити ДНК (рис. 6.2, 6.3, 6.4).

Одна из систем, восстанавливающая повреждения ДНК, вызванные УФ-лучами, названа системой фотореактивации. Ферменты, обеспечивающие фотореактивацию, действуют в присутствии видимого света и осуществляют расщепление тиминовых димеров, превращающей их в мономерные формы. Активность другой системы, выполняющей эти же функции, обеспечивается ферментами действующими в отсутствии видимого света. Она названа системой темновой репарации, которую условно подразделяют на дорепликативную и пострепликативную.

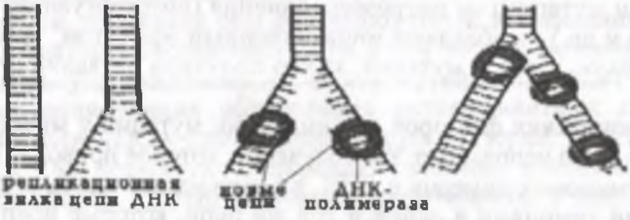


Рис. 6.2. Репликационная вилка.

Репликационная вилка цепи ДНК похожа на застежку разъединенной «молнии». Молекулы ДНК-полимеразы, присоединенные к двум родительским цепям ДНК, работают в противоположных направлениях, синтезируя на каждой из них дочерние нити. На одной цепи ДНК фермент сдвигается к репликационной вилке, на другой новые молекулы полимеразы должны связываться вблизи вилки, чтобы синтезировать вторую нить ДНК между точкой раздвоения и участком связывания предыдущей молекулы фермента.

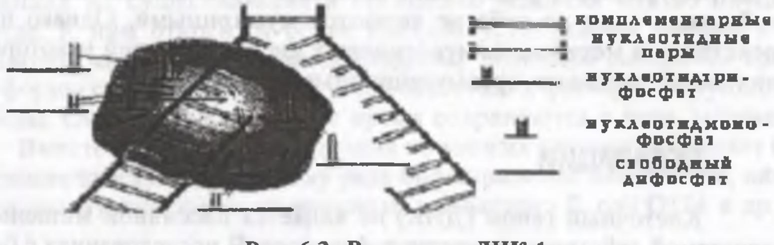


Рис. 6.3. Репарация ДНК-1

Отбор нуклеотидов осуществляется ДНК-полимеразой, ведущей синтез ДНК в 2 стадии: 1 — расщепление нуклеотидтрифосфата до монофосфата; 2 — присоединение монофосфата к растущей нуклеотидной цепи. Если полимераза связала некомплементарный нуклеотид, он может быть отвергнут до образования ковалентных связей. Этот процесс называют «редакторской правкой».

Рис. 6.4. Репарация ДНК-2.

«Редакторская правка» осуществляется ферментом экзонуклеазой, ассоциированной с ДНК-полимеразой. Экзонуклеаза удаляет нуклеотиды, только что ошибочно присоединенные к синтезируемой ДНК. При образовании некомплементарной ошибочной пары замедляется включение следующего нуклеотида, и у экзонуклеазы появляется время для исправления ошибки, после чего полимераза делает новую попытку присоединить к цепи ДНК комплементарный нуклеотид.

Процесс *дорепликативной* репарации схематически представляется следующим образом:

1) обнаружение и надрезание поврежденного фрагмента ДНК эндонуклеазой;

2) удаление вырезанного фрагмента ДНК-полимеразой I;

3) синтез нуклеотидов по матрице второй сохранившейся нити либо ДНК-полимеразой I, либо ДНК-полимеразой III;

4) «сшивание» восстановительного фрагмента ДНК с основной нитью, осуществляемое лигазой.

Мутанты, утратившие способность к темновой репарации, обладают резко повышенной чувствительностью не только к летальному, но и к мутагенному действию УФ-лучей. Они репарируются системой *пострепликативной* репарации путем рекомбинаций. При этом дефекты ДНК застраиваются фрагментами неповрежденных нуклеотидов.

Повреждения ДНК, вызванные химическими мутагенами, также репарируются ферментами бактериальной клетки.

SOS-репарация является индуцибельным процессом, который происходит при множественных изменениях в ДНК. В данном процессе участвует около 20 новых белков. SOS-репарация имеет несколько систем активации. Низкая и средняя системы активации происходят быстро. Однако в этих случаях происходят ошибки. При высокой степени активации наблюдается разрушение хромосомы, амплификация плазмид и переход интегративной фаговой инфекции в продуктивную. В этом случае происходит гибель клетки, но осуществляется спасение маркеров для бактериальной популяции в целом.

Репарирующие системы присущи клеткам млекопитающих и человека. Они способны восстанавливать повреждения клеточного генома, вызванного радиацией. Дефекты этих систем являются причиной ряда заболеваний человека. Так, например, наследственное заболевание человека с летальным исходом Xeroderma pigmentosum связано с отсутствием системы, восстанавливающей повреждение ДНК, вызванное УФ-лучами. В результате этого при УФ-облучении у таких людей возникает рак кожи.

6.8. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕКОМБИНАЦИИ

Микроорганизмам, как и клеткам высших организмов свойственны генетические рекомбинации, которые имеют свои особенности. Они определяются прежде всего способом размножения и закономерностями передачи генетического материала. Известно, что генетические рекомбинации у клеток эукариот совершаются в ходе процессов, сопровождающих половое размножение путем реципрокного (взаимного) обмена фрагментами хромосом. При таком обмене

генетическим материалом из двух рекомбинирующих родительских хромосом образуются две рекомбинантные хромосомы. Применительно к данным клеткам это означает, что в результате рекомбинаций возникают две рекомбинантные особи.

Прокариотам не свойственно половое размножение. Рекомбинация у них происходит в результате внутригеномных перестроек, заключающихся в изменении локализации генов в пределах хромосомы, или при проникновении в клетку реципиента части ДНК донора. Последнее приводит к формированию неполной зиготы — мерозиготы. В результате рекомбинаций в мерозиготе образуется только один рекомбинат, генотип которого представлен в основном генотипом реципиента с включенным в него фрагментом ДНК донора. Вследствие этого реципрокность генетических рекомбинаций у бактерий не может быть выявлена.

Рекомбинации подразделяют на законные и незаконные. Законная рекомбинация требует наличия протяженных, комплементарных участков ДНК в рекомбинируемых молекулах. Она происходит только между близкородственными видами микроорганизмов.

Незаконная рекомбинация не требует наличия протяженных комплементарных участков ДНК. Впервые она была описана Л.Б. Борисовым в 1965 г. между неродственными коли-фагами, лизирующими энтеропатогенные эшерихии серогрупп 0III и 026. Незаконная рекомбинация происходит при участии Is-элементов, которые имеют «липкие концы», обеспечивающие их быстрое встраивание в бактериальную хромосому.

Существенное практическое значение имеют запрограммированные внутригеномные рекомбинации, при которых происходит только изменение локализации имеющихся генов. Они играют важную роль в изменении антигенной структуры микроорганизмов и тем самым эффективно противостоят факторам иммунной защиты. Это относится к боррелиям, трипаносомам, малярийному плазмодию и другим микробам.

Для бактерий предложены специальные методы генетического анализа, позволяющие установить относительное расположение генов на хромосоме и их тонкую структуру. Однако в некоторых случаях, когда анализу могут подвергнуться оба рекомбинирующих генома, реципрокность генетического обмена характерна и для бактерий, например при рекомбинациях между плазмидной и хромосомной ДНК.

Генетические рекомбинации происходят при участии ряда ферментов в пределах отдельных генов или групп сцеплений генов. Существуют специальные *rec*-гены, детермирующие рекомбинационную способность бактерий. Передача генетического материала (хромосомных генов) от одних бактерий к другим происходит путем трансфор-

мации, трансдукции и конъюгации, а плазмидных генов — путем трансдукции и конъюгации.

6.8.1. Трансформация

Трансформация — непосредственная передача генетического материала (фрагмента ДНК) донора реципиентной клетке. Впервые воспроизведена Ф. Гриффитсом в 1928 г. в опытах с авирулентным бескапсульным штаммом пневмококка, который приобрел вирулентные свойства при одновременном введении в брюшную полость белых мышей с убитыми капсульными вариантами этих же бактерий. В дальнейшем было показано, что вирулентные свойства передаются in vitro при обработке авирулентных бескапсульных пневмококков экстрактом убитых капсульных пневмококков.

В 1944 г. О. Эвери, К. Мак-Леод и К. Мак-Карти установили, что активным началом, содержащимся в экстракте убитых пневмококков, является ДНК, которая определяет его генетические свойства и является носителем генетической информации.

Феномен трансформации воспроизводится в опытах с разными патогенными и непатогенными бактериями: стрептококками, менингококками и др. С донорной ДНК в реципиентную клетку обычно передается только один ген. Это связано с протяженностью трансформирующего фрагмента ДНК, который может проникнуть в реципиентную клетку. Обычно он не превышает $^1/_{100}$ длины бактериальной хромосомы, т.е. включает один или несколько сцепленных генов.

Эффективно трансформация происходит в опытах с бактериями одного и того же вида, имеющих разный генотип. Так, например, в опытах трансформации можно заместить гены «дикого» на мутировавшие или произвести замену обратного порядка. Трансформирующему воздействию ДНК поддаются не все, а только часть клеток бактериальной популяции. Клетки, способные воспринимать донорную ДНК, называются компетентными. Состояние компетентности непродолжительно. Оно возникает в определенный период роста бактериальной культуры, чаще всего совпадающий с концом логарифмической фазы. В состоянии компетентности клеточная стенка бактерий становится проницаемой для высокополимерных фрагментов ДНК. По-видимому, это связано с тем, что трансформируемый фрагмент ДНК связывается с белком, образуя трансформасому, в которой он переносится в бактериальную клетку. Вместе с тем в трансформосоме он защищен от клеточных нуклеаз.

Трансформирующей активностью обладают двунитевые фрагменты ДНК с молекулярной массой не менее $0{,}5–1 \cdot 10^6$. Процесс трансформации бактерий можно подразделить на несколько фаз:

1) адсорбция ДНК-донора на клетке-реципиенте;

2) проникновение ДНК внутрь клетки-реципиента;

3) соединение ДНК с гомологичным участком хромосомы реципиента с последующей рекомбинацией.

После проникновения внутрь клетки трансформирующая ДНК деспирализуется. Затем происходит физическое включение любой из двух нитей ДНК донора в геном реципиента.

Эффективность спаривания трансформирующей ДНК с соответствующим участком хромосомы реципиента зависит от степени гомологичности ДНК донора и реципиента. Чем выше гомологичность, тем эффективнее спаривание, что определяет конечный результат трансформации, т.е. количество формирующихся рекомбинантов (трансформантов). Отсюда ясно, почему межвидовая трансформация происходит гораздо реже, чем внутривидовая.

6.8.2. Трансдукция

Передача генетического материала от одних бактерий другим с помощью фагов называется *трансдукцией*.

Этот вид генетического обмена открыт Н. Циндером и Дж. Ледербергом в 1951 г. Различают три типа трансдукции: неспецифическую, или общую, специфическую и абортивную.

Неспецифическая трансдукция. В процессе репродукции фага в момент сборки фаговых частиц в их головку вместе с фаговой ДНК может проникнуть какой-либо фрагмент ДНК бактерии-донора, как это показано на рис. 6.5. При этом фаг может утратить часть своего генома и стать д е ф е к т н ы м. Такие дефектные трансдуцирующие фаги составляют примерно 0,3% всего потомства. При неспецифической трансдукции в клетки реципиентного штамма вместе с фаговой ДНК могут быть перенесены любые гены донора, например гены, контролирующие способность синтезировать аминокислоты, пурины, пиримидины, гены резистентности к антибиотикам или др.

Принесенный фагом фрагмент ДНК бактерии-донора способен включаться в гомологическую область ДНК клетки-реципиента путем рекомбинации. Таким образом, при неспецифической трансдукции трансдуцирующие фаги являются только переносчиком генетического материала от одних бактерий к другим, поскольку сама фаговая ДНК не участвует в образовании рекомбинантов (трансдуктантов).

Специфическая трансдукция характеризуется способностью фага переносить определенные гены от бактерии-донора к бактерии-реципиенту. Это связано с тем, что образование трансдуцирующего фага происходит путем выщепления профага из бактериальной хромосомы вместе с генами, расположенными на хромосоме клетки-донора рядом с профагом. Например, трансдуцирующий фаг лямбда (λ) переносит ген *gal*, контролирующий ферментацию галактозы, или ген

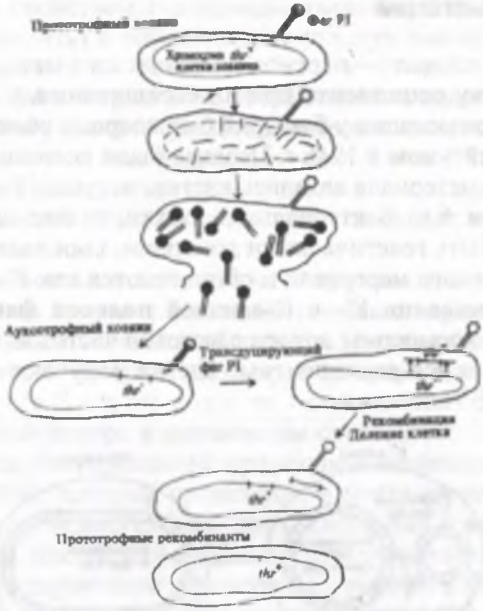


Рис. 6.5. Схема образования трансдуцирующего фага P1, несущего ген thr (синтез триптофана). Последующая передача этого гена ауксотрофному хозяину приводит к формированию прототрофных рекомбинантов

bio, ответственный за синтез биотина. При выщеплении бактериальных генов вместе с ДНК профага из состава хромосомы часть фаговых генов утрачивается, в результате чего формируется дефектный фаг d, несущий ген *gal* клетки-донора. Он обозначается ё *dgal.* В том случае, когда он несет ген *bio*, его обозначают ё *dbio*.

При взаимодействии трансдуцирующих фагов с клетками реципиентного штамма происходит включение гена бактерии-донора вместе с ДНК дефектного фага в хромосому бактерии-реципиента. Бактерии, лизогенированные дефектным фагом, невосприимчивы, как и все лизогенные клетки, к последующему заражению гомологичным вирулентным фагом.

Абортивная трансдукция. При абортивной трансдукции принесенный фагом фрагмент ДНК бактерии-донора не включается в хромосому бактерии-реципиента, а располагается в ее цитоплазме и может в таком виде функционировать. Во время деления бактериальной клетки трансдуцированный фрагмент ДНК-донора может передаваться только одной из двух дочерних клеток, т.е. наследоваться однолинейно и в конечном итоге утрачиваться в потомстве.

6.8.3. Конъюгация

Конъюгация — перенос генетического материала из клетки-донора в клетку реципиента при их скрещивании.

Процесс конъюгации у бактерий был впервые обнаружен Д. Ледербергом и Э. Тейтумом в 1946 г. Позднее было показано, что донорами генетического материала являлись клетки, несущие F-плазмиду (половой фактор) (см. 6.6). Бактериальные клетки, не имеющие F-плазмиды, не способны быть генетическими донорами. Они являются реципиентами генетического материала и обозначаются как F^--клетки.

При скрещивании F^+- с F^--клеткой половой фактор передается независимо от хромосомы донора с высокой частотой, близкой к 100%. При этом почти все реципиентные клетки получают половой фактор и становятся F^+-клетками.

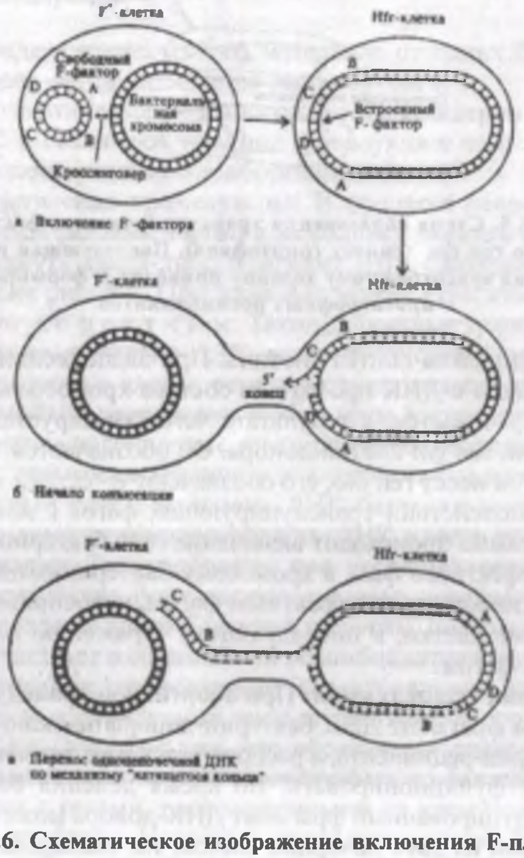


Рис. 6.6. Схематическое изображение включения F-плазмиды в бактериальную хромосому при коньюгации

Важнейшим свойством F-плазмиды является способность включаться (интегрировать) в определенные участки бактериальной хромосомы и становиться ее частью, так же как это имело место в случае умеренного фага λ (рис. 6.6). В некоторых случаях F-плазмида, аналогично профагу λ, освобождается из хромосомы, захватывая при этом сцепленные с ней бактериальные гены. Такие F-плазмиды обозначают с указанием названия включенного в ее состав гена. Например Flac, которая при передаче реципиенту наделяет его способностью ферментировать лактозу.

Первым этапом конъюгации является прикрепление клетки-донора к реципиентной клетке с помощью половых ворсинок (sex pili). Затем между обеими клетками образуется конъюгационный мостик (рис. 6.7, 6.8), через который из клетки-донора в клетку-реципиент могут передаваться F-фактор и другие плазмиды, находящиеся в цитоплазме бактерии-донора в автономном состоянии.

Для переноса бактериальной хромосомы необходим разрыв одной из цепей ДНК, который происходит в месте включения F-плазмиды при участии эндонуклеазы. Проксимальный конец ДНК через конъюгационный мостик проникает в клетку-реципиент и сразу же достраивается до двунитевой структуры. Оставшаяся в клетке донора нить ДНК является матрицей для синтеза второй нити. Следовательно, при конъюгации передается только одна нить ДНК-донора, а вторая, оставшаяся комплементарная, цепь достраивается в реципиентной клетке (рис. 6.8).

Рис. 6.7. Коньюгация бактерий. ЭМ. Ув. 60 000

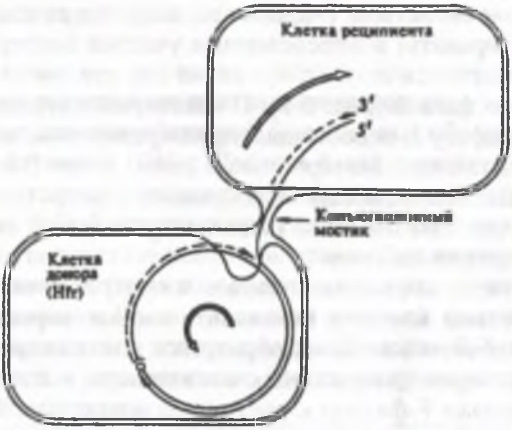


Рис. 6.8. Перенос бактериальной хромосомы при коньюгации из клетки донора (Hfr) в клетку реципиента.
Стрелками указано направление переноса. Пунктирной линией обозначен синтез дочерней нити ДНК на матрице материнской нити

Таким образом, интеграция F-плазмиды в состав бактериальной хромосомы приводит к разрыву одной из нитей ДНК, что обеспечивает возможность ее переноса в реципиентную клетку. Такие штаммы бактерий-доноров получили название Hfr-штаммы (англ. *high frequency of recombination* — высокая частота рекомбинации). При скрещивании Hfr-штамма с F^--бактериями F-фактор, как правило, не передается, поскольку он расположен в дистальной части хромосомы. С высокой частотой передаются только гены бактериальной хромосомы, расположенные вблизи начала переноса — О-точки (англ. *origin* — начало), вследствие разрыва конъюгационного мостика. При этом F-плазмида определяет не только О-точку, характерную для каждого штамма, но и направление передачи хромосомы от донорной клетки к реципиентной.

6.9. ОСНОВЫ ПОПУЛЯЦИОННОЙ ГЕНЕТИКИ

В организме человека бактерии находятся в виде популяций, локализующихся в определенных биотопах (полость рта, просвет кишки и т.д.). Стабильность и выживаемость бактериальной популяции определяются ее генофондом, т.е. совокупностью генотипов всех составляющих ее микробных клеток.

В процессе жизнедеятельности микробной популяции в ней появляются отдельные особи с измененными признаками, которые явля-

ются гетерогенными по отношению к подавляющему большинству клеток. Выживание и размножение гетерогенных клеток под воздействием направленного отбора определяются соответствием признаков отдельных клеток новым условиям их существования. Чем выше гетерогенность популяции, тем больше шансов на ее выживание.

По мере накопления гетерогенных особей, имеющих селективные преимущества перед исходными клетками, изменяется генофонд популяции.

Изменчивость генофонда микробной популяции может быть подразделена на два типа: *фенотипическую — модификационную* и *генотипическую — мутационно-рекомбинационную.*

Первый, модификационный, тип осуществляется с помощью постоянно действующих механизмов репрессии и индукции структурных генов, не сопровождающихся их перестройкой. Это в конечном счете способствует выживанию тех клеток, которые лучше, чем исходные, адаптируются к изменяющимся условиям среды или, говоря другими словами, настраиваются на оптимальный режим работы.

После прекращения действий того или другого фактора микробные клетки утрачивают приобретенные признаки и возвращаются к первоначальному фенотипу. Их генотип при этом не подвергается изменениям.

К данному типу изменчивости можно отнести альтернативную экспрессию генов, контролирующих образование белков, участвующих в адгезии (адсорбции) гонококков на слизистой оболочке утеры. Эти белки, выполняющие идентичную функцию, отличатся друг от друга по антигенным свойствам. Смена белков происходит в ходе инфекции путем включения «молчащего» гена и выключения ранее функционирующего. При этом каждая бактериальная клетка может синтезировать только один тип антигенного белка.

Функционирование одного или двух генов или групп генов может определяться инверсией промотора, который в зависимости от своего положения включает те или другие гены. Включение тех или иных механизмов обеспечивает микробной популяции селективные преимущества.

Сигнал, обеспечивающий правильный выбор гена, по-видимому, исходит от антител, образующихся к соответствующим микробным антигенам. Этот сигнал «опасности» воспринимается рецепторами микробной клетки и передается регуляторным генам, которые включают соответствующие структурные гены, контролирующие образование иных антигенов. В противном случае упомянутые микроорганизмы под воздействием антител будут элиминированы не только из популяции, но и из организма своего хозяина. Таким образом, в дан-

ном случае антитела являются индуцирующими и селективными факторами.

Мутационно-рекомбинационный механизм связан с образованием в микробной популяции измененных генотипов, постоянно возникающих в результате мутаций, рекомбинаций, внесения внешней информации с транспозируемыми элементами.

Увеличение гетерогенности микробных популяций в организме человека происходит за счет воздействия мутагенных факторов, образующихся в результате метаболических реакций (пероксида водорода, нитрозамины и др.), некоторых химиотерапевтических средств (производные нитрофурана и др.), а также молекул ДНК и РНК, освобождающихся после гибели микроорганизмов и клеток разнообразных тканей и органов.

Вместе с тем транспозоны и Is-последовательности при перемещении на бактериальной хромосоме встраиваются в любые ее участки, вызывая инсертационные мутации.

Гетерогенность микробных популяций увеличивается также в результате перестройки структурных генов, в том числе и тех, которые контролируют образование антигенов (*см. 13.3*). Так, например, при локализации отдельных фрагментов одного и того же гена в разных частях бактериальной хромосомы или в хромосомной и плазмидной ДНК они будут функционировать только при сборке в единый ген. Число вариантов этого функционирующего гена для каждой микробной клетки весьма велико, что дает возможность синтезировать широкий ассортимент разновидностей одного и того же продукта. В данном случае селективными преимуществами будут обладать микроорганизмы, имеющие гетерологичные антигены к циркулирующим в крови антителам. Подобные генетические механизмы лежат в основе антигенной изменчивости гонококков, боррелий возвратного тифа, трипаносом, малярийного плазмодия и других микроорганизмов в ходе инфекционного заболевания.

Некоторые F-, R-плазмиды, трансдуцирующие бактериофаги, вносят с собой фрагменты чужеродной ДНК, которые могут рекомбинировать с ДНК реципиентных клеток в том случае, если они имеют гомологичные нуклеотидные последовательности. В результате описанных событий изменяются генотипы бактериальных клеток, что фенотипически проявляется в появлении новых признаков, которые оцениваются естественным отбором.

В организме человека в качестве селективных факторов выступают химиотерапевтические средства, специфические антитела и др. Вместе с тем эти же факторы могут служить индукторами соответствующих сигналов, которые воспринимаются рецепторами микробных клеток и передаются регуляторным генам, что приводит к появлению новых генотипов и фенотипов.

Молекулярно-генетические механизмы гетерогенности микробных популяций чрезвычайно многообразны, поскольку в самой природе ДНК заложены два механизма: сохранение стабильности генома и обеспечение его изменчивости.

6.10. ГЕНЕТИКА ВИРУСОВ

Модификации. Модификационные ненаследуемые (фенотипические) изменения у вирусов обусловлены особенностями клетки хозяина, в которой происходит их репродукция. У многих вирусов животных и человека модификации проявляются изменением химического состава внешней оболочки (суперкапсида) вириона, связанного с включением в ее состав липидов и углеводов тех клеток хозяина, в которых происходит их репродукция.

Мутации. Спонтанные мутации у вирусов возникают во время репликации их нуклеиновых кислот. Они затрагивают различные свойства вирусов.

Индуцированные мутации возникают под действием тех же химических и физических мутагенов, которые вызывают мутации у бактерий. Одни из них (азотистая кислота, гидроксиламин, нитрозогуанидин) действуют на внеклеточный вирус, другие (акридин, аналоги азотистых оснований) — на внутриклеточный вирус во время репликации его нуклеиновой кислоты.

Мутанты вирусов фенотипически различаются по строению бляшек, которые они образуют на тканевых культурах с агаровым покрытием, по чувствительности к температуре (ts-мутанты), по антигенным свойствам белков капсида.

Рекомбинации и другие феномены. Свойства вирусов могут изменяться при одновременном заражении двумя вирусами чувствительной к ним клетки хозяина. Эти изменения можно классифицировать как генетическую рекомбинацию, генетическую реактивацию, комплементацию, фенотипическое смешивание.

При генетической рекомбинации происходит обмен отдельными генами между двумя или более вирусами в фонде реплицирующейся ДНК, в результате чего образуются рекомбинанты, содержащие гены двух или более родителей. Рекомбинации между РНК-вирусами происходят реже. Они встречаются у вируса гриппа, имеющего фрагментированный геном.

Генетическая реактивация — особый случай рекомбинации, или перераспределения, генов, когда у двух родственных вирусов инактивированы разные гены. При скрещивании таких вирусов могут образовываться полноценные вирусные частицы, т.е. происходит множественная реактивация вирусных геномов. Данный процесс наблюдается у рео-, поксвирусов и др.

К негенетическим процессам относятся комплементация и фенотипическое смешивание. Комплементация происходит в том случае, когда белки, кодируемые геномом одного вируса, способствуют репродукции другого вируса. При этом один из вирусов доставляет генный продукт, который дефектен у другого вируса. В отличие от рекомбинации комплементация не сопровождается обменом нуклеиновых кислот между молекулами данных вирусов.

Комплементация описана у многих вирусов. Так, аденовирусы человека в течение многих лет выделяли и культивировали в почечных клетках обезьян макак резусов. Оказалось, что аденовирусы могли репродуцироваться в этих клетках только благодаря присутствию в них онкогенного вируса SV40.

Фенотипическое смешивание наблюдается при смешанном заражении клеток в том случае, если часть потомства одного вируса приобретает фенотипические признаки обоих родителей, хотя их генотип остается неизменным. Например, при заражении клеток вирусами полиомиелита и Коксаки в потомстве происходит образование вирионов, содержащих РНК одного партнера, заключенную в капсид другого. Данный феномен получил название «транскапсидация».

6.11. ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ УЧЕНИЯ О ГЕНЕТИКЕ МИКРООРГАНИЗМОВ И ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ В МЕДИЦИНСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

Развитие молекулярной генетики явилось мощным стимулом для исследований, посвященных изучению молекулярно-генетических основ патогенности и иммуногенности микроорганизмов, механизмов образования новых биологических вариантов патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, распространением антибиотико-резистентных штаммов на фоне расширяющегося арсенала химиотерапевтических средств. Последние, являясь мощными селективными факторами, способствуют накоплению предшествующих в популяции резистентных форм бактерий и формированию лекарственно-устойчивых популяций с измененными патогенными и другими свойствами (*см. 10.4*).

Вместе с тем изменения иммунологической реактивности макроорганизма в результате разнообразных воздействий факторов окружающей среды, а также всевозможных лекарственных препаратов оказывают существенное влияние на фенотипическое выражение патогенных генотипов. Все это отражается на наблюдаемых в настоящее время изменениях в патогенетических и клинических особенно-

стях инфекционных заболеваний и распространении внутрибольничных инфекций.

Достижения генной инженерии позволяют создать новые генетические элементы из нуклеотидных последовательностей, несущие заданную информацию, способы их переноса в клетки про- и эукариотов.

Новые генетические элементы представляют собой рекомбинантные молекулы ДНК, которые включают два компонента: вектор-переносчик и клонированную «чужеродную» ДНК. Вектор должен обладать свойствами репликона и обеспечить репликацию вновь созданной рекомбинантной молекулы. Поэтому в качестве вектора используют такие репликоны, как плазмиды, умеренные фаги, вирусы животных, имеющие циркулярную замкнутую структуру ДНК. Клонируемая ДНК — это фрагмент ДНК, несущий необходимый ген, контролирующий синтез нужного продукта. В настоящее время разработаны различные технологические приемы создания рекомбинантных молекул. Наиболее простой принцип сводится к обработке выделенных молекул ДНК вектора и ДНК, несущей нужный ген, ферментами рестриктазами (эндонуклеазы рестрикции), атакующими взятые молекулы ДНК в строго определенном участке. Некоторые рестриктазы расщепляют молекулы ДНК с образованием однонитевых комплементарных друг другу концов, так называемых «липких» концов. Таким образом, первым этапом является «разрезание» молекул ДНК с помощью эндонуклеаз рестрикции. Второй этап состоит в обработке полученных линейных молекул ферментом полинуклеотидлигазой, которая «сшивает» две разные молекулы в одну рекомбинантную, третий — во введении рекомбинантных молекул методом трансформации в клетки E. coli или других микроорганизмов, например дрожжей.

Вопросы для самоконтроля

1. Какие молекулярно-генетические закономерности были установлены при изучении бактерий и вирусов?
2. Какие механизмы лежат в основе модификационной изменчивости бактерий?
3. Дайте характеристику мутациям и репарациям и их молекулярным механизмам, функционирующим у бактерий.
4. Какие формы генетических рекомбинаций присущи бактериям? Каков их механизм?
5. В чем состоит механизм R–S-диссоциации бактерий?
6. Какие внехромосомные факторы наследственности присущи бактериям?
7. Какие механизмы лежат в основе популяционной генетики бактерий?
8. Каковы генетические механизмы изменчивости вирусов?
9. В чем состоят основные принципы генной инженерии?
10. Каково практическое значение учения о генетике микроорганизмов?

11. В чем состоят различия между плазмидами, транспозонами и Is-элементами?

12. Дайте характеристику мутациям а) по молекулярным механизмам, б) по происхождению, в) по количеству мутировавших генов, г) по фенотипическим проявлениям?

13. Каковы механизмы репарации?

14. Каково эволюционное значение мутаций и репараций?

15. Каковы механизмы генетических рекомбинаций у бактерий?

16. В чем состоят различия между трансформацией, трансдукцией и конъюгацией?

17. Каковы причины и механизмы гетерогенности микробных популяций?

18. В чем состоят различия между генетическими рекомбинациями вирусов, их комплементацией и фенотипическим смешиванием?

19. В чем состоят различия между плазмидами, транспозонами и Is-элементами?

ГЛАВА 7
ОСНОВЫ ОБЩЕЙ И МЕДИЦИНСКОЙ МИКРОБНОЙ ЭКОЛОГИИ (МИКРОЭКОЛОГИЯ)

7.1. ВВЕДЕНИЕ В МИКРОЭКОЛОГИЮ

Термин «экологическая микробиология» был впервые введен в 1945 г. С.Н. Виноградским (1856–1953) для объединения разрозненных разделов общей и прикладной микробиологии, занятых изучением взаимосвязей макроорганизмов и микроорганизмов.

Однако экология микробов (микроэкология) как научное направление начала формироваться значительно раньше — еще в конце прошлого века. Ее фундаментом стали труды С.Н. Виноградского, который открыл специализированные формы почвенных бактерий и доказал их причастность к определенным процессам трансформации веществ в почве. На примере сообществ почвенных микрорганизмов он первым сформулировал положение о постоянной (аутохтонной) и непостоянной (зимогенной или аллохтонной) микрофлоре в конкретной экологической нише. Этот принцип оказался универсальным для микробных сообществ водоемов, растительных и животных организмов.

Уместно вспомнить, что еще в конце XX в. И.И. Мечников создал первую гипотезу трофической роли микрофлоры кишечника животных и человека. Им же был научно обоснован и предложен практический метод подавления отрицательной роли гнилостных бактерий при помощи регулярного употребления простокваши с лактобактериями.

Глобальная роль микроорганизмов в создании основ живой материи впервые была масштабно показана выдающимся русским натуралистом В.И. Вернадским (1863–1945), создавшим *учение о биосфере.* Он впервые сформулировал идею о биосфере как наивысшем уровне экологической интеграции.

Экологическая микробиология использует те же термины, что и общая экология, предметом которой является изучение взаимоотношений организмов со средой обитания. При этом следует учитывать как воздействие биотических и абиотических факторов среды на организмы, так и влияние организмов на среду обитания.

Экологическая микробиология изучает отношения внутри микробных сообществ, а также взаимоотношения микроорганизмов и макроорганизмов, совместно обитающих в общих биотопах.

Популяция — совокупность особей *одного вида* микробов, занимающих относительно однородную среду обитания. Важной функцией любой популяции является способность к саморегулированию для поддержания численности, оптимальной для конкретных условий обитания. Популяция как относительно обособленная часть вида в изолированном состоянии в природе не встречается. Такой феномен возможно сконструировать только искусственно, например, вырастив чистую культуру бактерий в пробирке с питательной средой.

Биотоп — *среда обитания микробов*, которая состоит из живых (биотических) или абиотических природных компонентов, чаще всего из их суммы. Микробы находятся в прямых или косвенных взаимоотношениях со средой обитания.

Экологические факторы — элементы среды обитания или условия среды, на которые микроорганизмы реагируют теми или иными приспособительными реакциями. Если значения экологических факторов, например температура, превышают максимальные возможности приспособительных реакций микроорганизмов, то такие значения являются летальными.

Биоценоз — совокупность популяций *разных видов*, связанных единой средой обитания (биотопом). *Микробоценоз* (синоним — микробиоценоз) — совокупность разных видов микробов, обитающих в одном биотопе, например, ротовой полости.

Экосистема (синоним — ***биогеоценоз***) является более высоким экологическим рангом и состоит из двух компонентов: 1) сообщества живых существ (биоценоза) и 2) среды их обитания (биотопа). Например, естественная микрофлора (микробиота) тела вместе с организмом хозяина. Или — микрофлора толстого кишечника и соответствующий участок желудочно-кишечного тракта.

Все природные биогеоценозы, если рассматривать их с позиции теории систем, относятся к *открытым* системам. В отличие от замкнутых или закрытых систем, они обмениваются с соседними экосистемами веществом и энергией. В соответствии с первым и вторым началами термодинамики все живые организмы, а также нормально функционирующие экосистемы, характеризуются высокой упорядоченностью своих компонентов. Они сохраняют определенный уровень энергии и тем противостоят *энтропии*, т.е. необратимому рассеиванию ее в виде тепла.

Данная закономерность распространяется и на микроорганизмы, а также на симбиотическую экосистему, состоящую из макроорганизма и естественной микробиоты этого тела. Любое вмешательство в экосистему, например воздействие антибиотиков, ведет к ее дезорганизации, вплоть до полной неупорядоченности структурных элемен-

тов. В итоге снижается устойчивость целостной системы к негативному действию внешних факторов. Весьма вероятна угроза развития состояния максимальной энтропии микробоценоза, которая может привести к гибели всей экосистемы.

Любая экосистема — лишь маленькая частица земной биосферы, которая является, по существу, суммой всех экосистем планеты, живой оболочкой Земли. Все живые существа в природе, в том числе и микроорганизмы, связаны с другими организмами в пределах своей экосистемы.

Если проанализировать взаимосвязи между различными популяциями микробов в каждом микробоценозе, то легко заметить что тип этих связей определяется обычно *пищевыми* (трофический тип связи) и *пространственными* (топический тип связи) «интересами».

По существу, тип связи обусловливает характер отношений между микроорганизмами разных видов в биоценозе. Не случайно два вида не могут сосуществовать, если они занимают ограниченную общую экологическую нишу и имеют единые пищевые интересы. При этом рост численности обоих видов будет лимитирован одинаковыми пространственными и пищевыми ресурсами.

Межвидовые взаимоотношения многообразны и динамичны. Классифицируют три основных типа отношений: **симбиоз, нейтрализм** и **конкуренцию**.

Симбиоз (греч. *symbiosis* — совместная жизнь) — такая форма сосуществования разных видов, когда партнеры участвуют (в равной степени или один из них больше, другой меньше) в урегулировании своих отношений с внешней средой. Симбиоз может быть факультативным или облигатным. При факультативном симбиозе каждый из организмов может при необходимости жить и без партнера, при облигатном — самостоятельное развитие одного из организмов или обоих невозможно.

Различают три типа симбиотических взаимоотношений: ***комменсализм, паразитизм*** и ***мутуализм.***

Комменсализм (лат. *com* — с, *mensa* — стол, трапеза) — характеризует такие отношения, когда микробы используют другой организм без вреда, но и без очевидной выгоды для последнего. Различают варианты комменсализма: *нахлебничество*, когда сожитель поедает остатки со стола более крупного партнера-хозяина; *квартиранство* — когда одни организмы используют другие как убежище. Например, многие микроскопические комменсалы человека — бактерии и грибы — питаются слущенным эпителием или остатками органических веществ в желудочно-кишечном тракте.

Паразитизм (греч. *parasitos* — нахлебник) — такая форма приспособления, когда партнер-паразит использует партнера-хозяина как среду обитания и/или как источник пищи, как правило, нанося опре-

деленный вред организму хозяина. Паразиты питаются не только омертвевшими органическими остатками со стола хозяина. Основная их пища — нативные тканевые или клеточные белки и другие необходимые компоненты живого организма хозяина. Паразиты устраняются от самостоятельного решения проблемы регуляции своих связей с внешней средой, полностью перекладывая эту задачу на партнера-хозяина.

Понятно, что отношения таких симбионтов имеют антагонистический характер. Однако в результате длительной взаимной адаптации и эволюции межвидовой антагонизм партнеров со временем несколько сглаживается. Гибель вида-хозяина невыгодна паразиту, ибо чревато прекращением исторической непрерывности самого паразитического вида. Вместе с тем на уровне особей равновесие в такой симбиотической системе весьма неустойчиво и его существенное нарушение может привести к гибели одного или обоих партнеров.

Для паразита характерна более узкая специализация по сравнению с другими типами симбиотических организмов. Это проявляется в *тропности*, т.е. приуроченности паразита к обитанию в строго определенных клетках, органах, тканях, к паразитированию только в организмах определенного круга хозяев. Различают *облигатные паразиты* (вирусы, риккетсии и хламидии — обязательные паразиты живых клеток) и *факультативные* (многие бактериальные и грибковые возбудители инфекционных заболеваний являются необязательными паразитами и могут выживать за пределами организма хозяина).

Под ***мутуализмом*** (лат. *mutuus* — взаимный) понимаются такие взаимоотношения, которые имеют взаимовыгодный характер. В данном случае микроорганизмы, питаясь за счет своего хозяина, не только не причиняют ему никакого вреда, но даже приносят пользу, например, синтезируют необходимые витамины, участвуют в процессах пищеварения, защищают от болезнетворных микробов, поддерживают иммунный тонус организма и т.п. Очевидно, предоставляя таким симбионтам кров и пищу, хозяин тоже получает определенную выгоду.

Следует признать, что применительно к естественной микрофлоре тела разграничение типов симбиоза в определенной степени условно.

Так, стафилококки, стрептококки, грамотрицательные бактерии и другие микробы-комменсалы человеческого тела имеют скрытый потенциал паразитизма. При снижении общей резистентности макроорганизма и некоторых иных ситуациях они могут обусловить развитие гнойно-воспалительных процессов. Подобные микроорганизмы относят к категории условно патогенных.

Есть и другие варианты очень тесных симбиотических взаимоотношений между микробами, например, ***синтрофия*** (греч. *syn* — вместе и *trophe* — пища, питание) — когда два или более видов могут *только совместно* реализовать конкретный процесс, необходимый для их жизни и размножения.

Нейтрализм (лат. *neutralis* — не принадлежащий ни тому, ни другому) — форма межвидовых отношений, при которой обитающие в одном биотопе и едином ценозе популяции не оказывают друг на друга ни стимулирующего, ни подавляющего действия. Однако косвенная взаимозависимость при этом имеется хотя бы потому, что они состоят в едином сообществе. Возможно, такие взаимоотношения наблюдаются между некоторыми микроорганизмами в кишечнике, их пищевые и топические интересы нередко существенно различаются.

Конкуренция (лат. *concurrere* — сталкиваться) возникает в тех случаях, когда микробы одного или разных видов вынуждены соревноваться за одни и те же ресурсы среды обитания при недостаточности последних. Конкуренция может быть пассивной или активной. В последнем случае исход соревнования определяется методами антагонистического воздействия против партнера. Микробы-антагонисты выделяют в среду обитания метаболиты, которые токсичны для конкурента. К таковым относятся антибиотики, бактериоцины, органические и жирные кислоты. Борьбу ведут обе стороны, что является фактором регуляции численности популяций в микробоценозах. Однако, как правило, в итоге один вид одерживает верх над другим и тормозит увеличение численности соперника.

Хищничество как форма отношений весьма распространено среди животных. При этом один организм поедает другого. В мире микробов хищничество встречается очень редко. Доказано, что мелкие водные вибрионы рода Bdellovibrio способны проникать в клетки более крупных грамотрицательных бактерий и пожирать их «внутренности», образуя многочисленное потомство бделловибрионов. Обычно их жертвами становятся представители группы кишечных бактерий. Медицинского значения этот феномен не имеет.

7.2. МИКРОБЫ И БИОСФЕРА ЗЕМЛИ

Все среды биосферы буквально пронизаны микроорганизмами: они есть в почве, воде, воздухе, их можно обнаружить на дне глубочайших океанов и на пиках горных вершин, в песках жарких пустынь и в антарктических льдах. Они есть в зловонных канализационных стоках и в сбросах химических предприятий, радиорезистентные бактерии существуют в системах ядерных реакторов. Вездесущность микробов объясняется их уникальной способностью находить и утилизировать самые ничтожные источники энергии, углерода и азота для своей жизнедеятельности. Колоссальное генетическое разнообразие обусловливает удивительную адаптацию микробов к условиям обитания, гибельным для любых других живых существ. Исключительно интенсивная жизнедеятельность огромного числа разнообразных микроорганизмов является важнейшим фактором обеспечения динамического равновесия земной биосферы.

Основные среды обитания микроорганизмов в природе — почва, вода, воздух, животные и растительные организмы. Кожные покровы

человека и сообщающиеся с внешней средой слизистые оболочки плотно колонизированы микробами.

Как показано выше, микроорганизмы обитают обычно в виде сложных ассоциаций — биоценозов, представленных разными видами. Поддержание эволюционно сложившихся взаимоотношений между отдельными видами, а также между биоценозами и внешней средой чрезвычайно важно для существования всего царства прокариот, т.е. бактерий.

Доказано, что бактерии способны самостоятельно обеспечить основные функции живого вещества, которые необходимы для дальнейшего существования биосферной оболочки нашей планеты. К таковым относят: энергетическую, концентрационную, деструктивную и средообразующую функции.

Только благодаря активной деятельности бактерий реализуется замкнутый характер круговорота азота и углерода как обязательных конструктивных элементов биосферы. Если на Земле исчезнут прокариотические клетки (бактерии) и останутся только эукариотические организмы (растения и животные), то биосферная жизнь вскоре прекратится. К счастью, это никогда не произойдет, ибо микробы исключительно быстро адаптируются к негативным последствиям производственной и иной жизнедеятельности человека, вырабатывая резистентность даже к тем химическим соединениям, которых нет в природе.

Полагают, что формирование биосферы произошло около 3 млрд лет тому назад, когда единственными обитателями Земли были прокариотические бактерии. Они активно участвовали в формировании биосферы планеты в сочетании с геологическими и атмосферными явлениями.

В нынешнюю эпоху Земля заселена разнообразными видами растений, животных, грибов, водорослей. Однако по-прежнему микроорганизмы играют доминирующую роль в функционировании биосферы. Они активно участвуют в обеспечении биогеохимических циклов круговорота веществ и энергии.

Как известно, животные и растения синтезируют значительно больше органических веществ, чем они могут минерализовать сами или при содействии абиогенных факторов. Возникает потенциальность «эффекта складирования» таких биогенных элементов, как азот, углерод, сера, фосфор с уменьшением их оборота. *Теоретически жизнь на Земле могла бы исчезнуть из-за дефицита конструктивного материала, если бы не было микроорганизмов, которые способны расщеплять все органические вещества, в том числе синтезируемые животными и растениями.* Более того, микробы самостоятельно осуществляют синтез и разложение собственной биомассы до исходных элементов. По-видимому, в природе нет органических веществ, которые не разрушались бы микроорганизмами.

7.2.1. Роль микробов в круговороте азота и углерода

Под природным круговоротом веществ понимают непрерывную цепь превращений химических элементов, из которых построены живые существа.

Динамическое равновесие и устойчивость биосферы планеты зависят от бесперебойного снабжения солнечной энергией и постоянного круговорота углерода, кислорода, азота, серы и фосфора. В целом эти процессы выглядят так. Фотосинтезирующие организмы (высшие растения и одноклеточные морские водоросли) превращают CO_2 и прочие неорганические вещества в глюкозу и иные органические соединения, являющиеся источником энергии для всех организмов. Сами фотосинтезирующие организмы служат пищей для животных.

При этом основные биогенные элементы сохраняются в органическом состоянии и являются строительным материалом для развивающихся клеток и тканей животных. Белоксодержащие останки погибших животных и растений разлагаются микроорганизмами в процессе гниения, минерализуясь до неорганических соединений. В таком виде они вновь доступны для фотосинтезирующих организмов.

Биогеохимические циклы круговорота азота, углерода, серы, фосфора и других элементов сложились в эпоху зарождения земной жизни, они функционируют и сейчас, когда главным продуцентом биомассы стали растения, а главным ее минерализатором — микроорганизмы.

Круговорот азота. Только азотфиксирующие бактерии почвы способны непосредственно использовать молекулярный азот воздуха как материал для собственного белка. Высшие растения могут утилизировать азот лишь в виде его соединений — аммонийных солей, нитратов. *Бактерии-аммонификаторы* трансформируют белки в аммиак и аммонийные соли (минерализация азота), ***нитрифицирующие бактерии*** превращают аммонийные соли в соли азотной кислоты, а *бактерии-денитрофикаторы* снова восстанавливают молекулярный азот.

Обусловленный бактериями распад азотистых органических веществ — это и есть суть процесса *гниения*, соответствующий распад безазотистых органических веществ — суть процесса *брожения.*

Гниение есть процесс аммонификации белков в результате их ферментативного гидролиза под воздействием преимущественно анаэробных микробов. Конечным продуктом гидролиза белков и дезаминирования аминокислот является NH_3. В зависимости от состава белков и ферментативного потенциала гнилостных бактерий минерализация белковых веществ может быть полной или неполной.

Вследствие вездесущности и чрезвычайно высокой метаболической активности микроорганизмы играют главную роль в химических превращениях, которые происходят на поверхности Земли. Гниение, обусловленное протеолитической деятельностью бактерий, обеспечивает почву азотистыми продуктами.

Гнилостные микробы широко распространены в почве, воде, воздухе, в животных и растительных организмах. Поэтому любой открытый продукт быстро подвергается гниению. Его вызывают как анаэробные, так и аэробные микроорганизмы. Наиболее глубокий распад белка с образованием азотистых и безазотистых соединений (скатола, индола, жирных кислот, NH_3, H_2S) происходит при участии спорообразующих бактерий рода *Bacillus — B. mycoides, B. mesentericus, B. subtilis,* бактерий семейства *Enterobacteriaceae (Proteus, Escherichia)* и др. Спорообразующие анаэробы рода *Clostridium — C. putrificum, C. sporogenes* обитают в малой концентрации в кишечнике, после смерти хозяина они активизируются, вызывая зловонное разложение трупа.

Гнилостные процессы постоянно происходят и в живом организме. В кишечнике их активаторами являются *Proteus, Escherichia, Morganella, Klebsiella, Pseudomonas* и другие бактерии, продуцирующие протеолитические ферменты. По мнению И.И. Мечникова, постоянно образующиеся в кишечнике продукты гниения (скатол, индол и др.), вызывают хроническую интоксикацию и являются одной из причин преждевременного старения.

При газовой гангрене ткани, омертвевшие под влиянием экзотоксинов, образуемых бактериями рода *Clostridium*, заселяются другими гнилостными аэробными и анаэробными бактериями и подвергаются дальнейшему распаду.

Исключительно важную роль процессы гниения играют в естественном самоочищении почвы и воды, этим пользуются при биологическом обезвреживании нечистот и фекальных сточных вод.

Круговорот углерода. Процессы распада безазотистых органических веществ обусловлены по преимуществу жизнедеятельностью микроорганизмов, а процессы созидательные — в результате фотосинтеза зеленых растений, водорослей и фотосинтезирующих бактерий. Показано, что минерализация, т.е. превращение органического углерода в CO_2, в 90% осуществляется микроорганизмами.

Ежегодно зеленые растения потребляют около 60 млрд тонн углекислого газа (или 20 млрд тонн углерода), а в атмосфере содержится около 600 млрд тонн углерода. Таким образом, при безвозвратном использовании его хватило бы только на 30 лет. Однако непрерывный круговорот сохраняет равновесие между потреблением углерода (из атмосферы) и выделением его в атмосферу.

Брожение — преимущественно анаэробный вариант биологического окисления углеводородсодержащих органических субстратов.

Процессы брожения обеспечивают распад неазотистых органических веществ. При этом микроорганизмы используют выделяющуюся энергию для своей жизнедеятельности. Еще в XIX в. Л. Пастер показал зависимость различных вариантов брожения от вида микроба и характера сбраживаемого субстрата.

Спиртовое брожение углеводов вызывают дрожжи *(Saccharomyces)*, некоторые бактерии *(Sarcina)* и грибы *(Mucor)*. При спиртовом брожении гексозы распадаются на этанол и углекислый газ.

Спиртовое брожение издревле применяется в производстве вина и пива, а также в хлебопечении. Обычно используют специально селекционированные (производственные) штаммы микрорганизмов с известными ферментативными свойствами. Контаминация исходного сырья дикими штаммами (расами), например, дрожжами рода *Torula* ухудшают вкус напитков и делают их мутными.

Уксуснокислое брожение — процесс, при котором ферменты уксуснокислых бактерий рода *Acetobacter* окисляют спирт до уксусной кислоты. *Acetobacter* необходимы для получения пищевого уксуса, однако вредят в виноделии и пивоваренной промышленности.

Молочнокислое брожение — такой вариант биологического окисления углеводов, когда сначала одни ферменты молочнокислых бактерий, например рода *Lactobacillus*, расщепляют лактозу до глюкозы и галактозы, а затем другие ферменты превращают последние в молочную кислоту. Молочная кислота в молоке отщепляет кальций от казеина, белок превращается в параказеин и выпадает в осадок, иными словами — молоко свертывается.

Молочнокислые бактерии активно участвуют в бродильных процессах, протекающих в кишечнике при пищеварении. И.И. Мечников считал, что брожение в пищеварительном тракте необходимо стимулировать для сдерживания избыточных гнилостных процессов. С этой целью он настоятельно рекомендовал регулярно употреблять кисломолочные продукты с живой специфической микрофлорой и до конца жизни неукоснительно следовал этому правилу (знаменитая «простокваша Мечникова» с болгарской палочкой *Lactobacillus bulgaricum*).

7.2.2. Роль микробов в круговороте других биогенных элементов

Сера входит в состав некоторых белков. Поэтому одним из продуктов распада белков может быть сероводород. Биохимические превращения серы восстановительного и окислительного порядка осуществляются серобактериями родов *Thiobacillus, Sulfolobus* и *Thiospira*. Для них H_2S является источником энергии. Сульфурирующие бактерии окисляют H_2S с выделением свободной серы.

В природе распространены и десульфурирующие микробы, они восстанавливают сульфаты, образуя H_2S. Так, в Черном море, в результате деятельности десульфурирующих бактерий, на глубине 2500 м содержание H_2S доходит до 6,5 мл в 1 л воды. Высокие концентрации H_2S отмечают в целебных

грязях. Серобактерии играют важную роль как активатор начальных этапов расщепления различных органических серосодержащих отбросов в сточных водах и нечистотах.

Фосфор имеется в живых организмах только в виде свободных фосфатных ионов (с пятивалентным фосфором) или в составе сложных фосфатных компонентов клетки. Поскольку основная часть фосфатов в природе представлена в виде нерастворимых комплексов с кальцием, алюминием и железом, доступность естественных фосфатов для растений в основном зависит от микробов. Бактерии, участвующие в переработке мертвых остатков растений и животных, способны утилизировать только ионы фосфатов, из которых затем синтезируют фосфорорганические соединения. Кроме того, вырабатывая в среду органические и неорганические кислоты, бактерии растворяют фосфат кальция, который после этого легко усваивается растениями.

Микробиологические аспекты охраны окружающей среды определяются важной ролью микроорганизмов в биосфере, о чем было сказано выше.

Во-первых, необходимо сохранять те микроорганизмы, от которых зависит природный круговорот веществ. Негативное действие промышленных и автомобильных выбросов на популяции микроорганизмов в природных экосистемах проявляется в замедлении или полном прекращении процессов синтеза биомассы и ее трансформации.

Во-вторых, следует дифференцированно оценивать роль микроорганизмов, осуществляющих *биодеградацию*. Нужно поддерживать микроорганизмы, которые разрушают во внешней среде так называемые *ксенобиотики*, т.е. синтетические соединения. Будучи биологически чужеродными, они часто обладают токсическими, аллергенными, тератогенными и канцерогенными свойствами. Поэтому их биодеградация есть явление позитивное. С другой стороны, необходимо сдерживать те микроорганизмы, которые вызывают порчу пищевых продуктов, лекарств, элементов водопроводных и канализационных сетей, топлива, машинных масел и других материалов.

В-третьих, следует защищать внешнюю среду от контаминации (загрязнения) патогенными и условно-патогенными микроорганизмами. Последние попадают в окружающую среду из организмов инфицированных людей, животных и растений, из лабораторий и микробиологических производств. В этот ряд можно поставить задачу предотвращения выброса земных микроорганизмов в космос. Сейчас все более актуальной становится еще одна проблема: защита природы и человека от генно-инженерных микробов-мутантов.

7.3. ОСНОВЫ САНИТАРНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

Санитарная микробиология изучает микрофлору окружающей среды с позиции влияния ее на здоровье человека. Санитарно-микробиологические исследования позволяют эпидемиологам и гигиенистам оценить опасность воды, воздуха, почвы, предметов обихода, медицинского оборудования, других объектов как вероятных факторов передачи возбудителей кишечных, респираторных, раневых и иных инфекций.

Правила взятия проб для исследования, методы анализа, а также допустимые уровни микробиологического загрязнения объектов строго регламентируются нормативными актами — стандартами, санитарными правилами и нормами, методическими указаниями, другими официальными документами.

Видовая идентификация выделенных из проб культур проводится достаточно редко. Обычно в санитарной микробиологии оперируют условными группами микробов, принадлежность к которым устанавливают по минимальному числу морфологических, культуральных и ферментативных признаков.

7.3.1. Микрофлора почвы

Почвы являются важнейшей средой и природным резервуаром обитания микроорганизмов. Вместе с растениями и животными они составляют сложные и многообразные биогеоценозы, состав, плотность, функциональная активность и прочие характеристики которых зависят от типа и структуры почвы, состава минеральных и органических веществ, физико-химического состояния, температуры, pH, влажности, концентрации углекислого газа, других факторов.

В слое пахотной почвы толщиной 15 см на площади в 1 га может содержаться от 1 до 5–6 тонн микробной массы. Она максимальна на глубине 10–20 см. На глубине свыше 1–2 м микроорганизмы уже встречаются в незначительном количестве, начиная с 5–6 м, почва может быть стерильной.

Патогенные микроорганизмы чаще всего попадают в землю с испражнениями, мочой, гноем, мокротой, слюной и другими выделениями, с трупами людей и животных, погибших от инфекционных заболеваний. Патогенные и условно-патогенные микробы контаминируют почву при сбросе фекально-бытовых и сточных вод различных предприятий.

Сроки переживания патогенных для человека микробов в почве широко варьируют. Неспорообразующие бактерии — возбудители дизентерии, брюшного тифа, холеры, чумы, бруцеллеза, туляремии, туберкулеза — выживают в почве от нескольких дней до нескольких

месяцев. Споры возбудителей столбняка, сибирской язвы, газовой гангрены могут сохраняться много лет. Более того, для спорообразующих бактерий рода *Clostridium* почва является естественной средой обитания. Поэтому попадание земли в раны чревато возникновением газовой гангрены или столбняка. Размножение в пищевых продуктах *C. botulinum* таит смертельную угрозу отравления ботулотоксином.

Отмирание патогенных бактерий в почве обусловлено недостатком влаги, отсутствием необходимых питательных субстратов, антагонизмом почвенных микробов, действием солнечных лучей.

Санитарно-микробиологическое исследование почвы проводят с целью предупредительного санитарного надзора (выбор места для строительства детского сада или игровой детской площадки), текущего санитарного надзора и по эпидемическим показаниям (при расследовании причин вспышек инфекционных заболеваний и последствий экологических аварий).

В зависимости от задачи анализ может быть *кратким* или *расширенным*. При проведении текущего санитарного надзора ограничиваются установлением факта и оценкой степени фекального загрязнения почвы. Почвы с преобладанием бактерий, свидетельствующих о фекальном загрязнении, рассматривают как санитарно неблагополучные. Для определения давности фекального загрязнения почвы определяют несколько санитарно-показательных микроорганизмов. Присутствие в почве определенных концентраций кишечной палочки (*E. coli*) и фекального стрептококка (*Streptoccocus faecalis*) указывает на свежее, бактерий родов *Citrobacter* и *Enterobacter* — на несвежее, а *Clostridium perfringens* — на давнее фекальное загрязнение.

Санитарно-микробиологическое исследование почвы с целью предупредительного надзора проводят по расширенному перечню показателей. Определяют ***коли-индекс*** — количество бактерий группы кишечной палочки (БГКП), обнаруженных в 1 г почвы, ***перфрингенс-титр*** — наименьшую массу почвы в граммах, в которой обнаруживаются особи *Clostridium perfringens*, ***общую численность сапрофитных, термофильных и нитрифицирующих бактерий в 1 г почвы.***

При интерпретации результатов исследования руководствуются нормативными документами, в которых учитываются не только общие критерии оценки, но и состав почвы, климатическая зона, другие факторы. Единого стандарта санитарно-микробиологической оценки почв нет.

7.3.2. Микрофлора воды

Вода открытых морских и пресноводных водоемов, как и почва, является естественной средой обитания разнообразных бактерий, грибов, вирусов, микроскопических водорослей, простейших.

В водоемах различают собственную (аутохтонную) и заносную (аллохтонную) микрофлору, поступающую из почвы, воздуха, живых организмов. В воде, как и в почве, происходят биологические процессы очищения от несвойственной (аллохтонной) микрофлоры.

Концентрация водных микроорганизмов определяется главным образом содержанием в воде органических веществ. Наиболее чисты грунтовые подземные воды, так как после просачивания через почву большинство микробов задерживается в фильтрующем слое. Значительно больше микробов в открытых водоемах, что связано с высоким содержанием растворенных питательных органических веществ, которые поступают со сточными и канализационными водами, отходами предприятий. Сегодня в реки, озера, моря выбрасывается такое количество сточных вод с микробами и огромным количеством органических веществ, что вода не успевает самоочищаться. В 1 мл такой воды количество микробов может достигать нескольких миллионов.

Вода имеет важное санитарно-эпидемиологическое значение как фактор передачи возбудителей многих инфекций, особенно кишечных (брюшного тифа, дизентерии, сальмонеллезов, холеры, гепатита А, полиомиелита), которые с испражнениями больных и носителей поступают в открытые водоемы, а оттуда нередко и в питьевую воду.

Хотя вода не особенно благоприятна для патогенных и условно-патогенных микробов, многие из них способны переживать в ней определенное время. Сроки выживания патогенных микробов в воде зависят главным образом от их вида и концентрации микробной взвеси, температуры воды и содержания органических веществ.

Споры возбудителя сибирской язвы годами могут сохраняться в воде; месяцы переживают в воде сальмонеллы, лептоспиры, вирусы полиомиелита и гепатита А. Меньше (дни, недели) выживают возбудители дизентерии, холеры, бруцеллеза, туляремии, условно-патогенные энтеробактерии. В теплое время года благодаря большей активности процессов самоочищения воды продолжительность жизни бактерий короче, в холодной воде соответственно дольше. Во льду возбудители кишечных инфекций могут сохраняться в течение нескольких недель и месяцев.

Санитарно-микробиологическое исследование воды проводится с целью текущего надзора, т.е. в плановом порядке, а также по специальным эпидемиологическим показаниям. Основными объектами такого исследования являются:

— питьевая вода централизованного водоснабжения (водопроводная вода),

— питьевая вода нецентрализованного водоснабжения,

— вода поверхностных и подземных водоисточников,

— сточные воды,

— вода прибрежных зон морей,

— вода плавательных бассейнов.

Требования к качеству воды разных объектов, методы исследований и критерии оценки результатов представлены в нормативных актах — государственных стандартах (ГОСТ), санитарных правилах и нормах, методических указаниях.

Основными официально регламентированными показателями качества санитарно-микробиологического состояния воды в настоящее время являются:

1. ***Общее микробное число*** (ОМЧ) — количество мезофильных бактерий в 1 мл ($см^3$) воды,

2. ***Индекс бактерий группы кишечных палочек*** (бывший «коли-индекс») — количество БГКП в 1 л воды.

Согласно ГОСТ-2874-82 в России в питьевой водопроводной воде допускается ОМЧ в $1 см^3$ не более 100, индекс БГКП не более 3.

Раньше использовали еще один показатель фекального загрязнения — «коли-титр» — наименьший объем воды, в котором обнаруживается хоть одна особь бактерий группы кишечных палочек (БГКП). При необходимости расследования водных вспышек инфекционных заболеваний проводят более детальное санитарно-микробиологическое исследование воды, определяя наличие энтерококков, сальмонелл, холерного вибриона, энтеровирусов.

7.3.3. Микрофлора воздуха

Недостаток влаги и питательных веществ, солнечная радиация препятствуют размножению микроорганизмов в атмосферном воздухе. Микробы поступают в воздух с поверхности почвы и растений, с отходами некоторых производств, из животных организмов. Микрофлора атмосферного воздуха вторична, бедна и вариабельна. Она зависит от интенсивности солнечной радиации, ветра, осадков, характера почвы, времени года.

При чихании, кашле, разговоре из верхних дыхательных путей человека в воздух выбрасывается множество капелек слизи с эпителиальными клетками и микроорганизмами. Взвешенные в воздухе капельки образуют стойкий микробный аэрозоль, мелкодисперсные фракции которого способны проникнуть не только в верхние, но даже в средние и нижние отделы респираторного тракта человека.

Воздушно-капельным путем происходит передача возбудителей так называемых респираторных инфекций — гриппа и кори, туберкулеза, коклюша, дифтерии, краснухи, ветряной оспы, паротита. Микробный аэрозоль может стать причиной развития аллергических заболеваний, особенно при наличии в воздухе плесневых грибов и актиномицетов.

Распространение патогенных микробов через воздух может реализоваться и другим путем, если выброшенные из респираторного трак-

ти капельки высыхают на поверхностях и превращаются в бактериальную пыль. Показано, что внутри белкового субстрата некоторые патогенные бактерии выживают дольше и такая бактериальная пыль может интенсивно перемещаться с воздушными потоками. *Пылевой путь* особенно значим в эпидемиологии туберкулеза, дифтерии.

Санитарно-микробиологическое исследование воздуха имеет целью контроль состояния в основном воздушной среды закрытых помещений: операционных, перевязочных в хирургических и акушерско-гинекологических отделениях, асептических палат и блоков, боксов аптек, детских учреждений, боксов на биотехнологических производствах и в бактериологических лабораториях.

Предельно допустимые уровни микробного загрязнения, показания, кратность и методы контроля санитарно-микробиологического состояния воздуха регламентированы официальными документами Министерства здравоохранения РФ — приказами, методическими указаниями и инструкциями. Государственные стандарты (ГОСТы), регламентирующие методы исследований и нормативы содержания микробов в воздухе пока отсутствуют.

Для исследования микрофлоры воздуха используют следующие методы:

1. *Естественная седиментация* — так называемый чашечный метод Коха с пассивным осаждением микробов на поверхность плотной питательной среды за определенное время, обычно 5–10 мин. Метод прост, но не позволяет выявить микробный аэрозоль малой дисперсности.

2. *Принудительная седиментация* микроорганизмов из воздуха с использованием специальных приборов — *импакторов* типа прибора Кротова (микробы осаждают на поверхность плотных питательных сред) и *импинджеров* типа прибора Дьяконова (при продувании воздуха микробы поступают в жидкие питательные среды). Эти методы наиболее надежны, так как позволяют дать количественную характеристику загрязнения воздуха микроорганизмами и изучить их видовой состав.

3. *Фильтрационный метод* — воздух продувают через воду или мембранные фильтры с последующим мерным высевом в питательные среды (редко используют).

Критериями оценки санитарно-микробиологического состояния воздуха закрытых помещений медицинских учреждений являются:

общее микробное число (ОМЧ) — количество бактерий в пересчете на 1 м^3 воздуха, выросших при посеве на поверхности питательного агара (посевы инкубируют сутки при 37°С, затем еще сутки при температуре около 20°С);

индекс санитарно-показательных бактерий — количество в пересчете на 1 м^3 воздуха условно-патогенных микробов дыхательных путей — гемолитических стрептококков, золотистого стафилоккока, грамотрицательных бактерий, дрожжеподобных и плесневых грибов.

По эпидемиологическим показаниям, например, для расследования вспышек инфекционных заболеваний или при изучении причин повышенного уровня внутрибольничных инфекций определяют наличие и концентрацию в воздухе патогенных микробов.

Большое значение для профилактики гнойных осложнений имеет микробная чистота воздуха в операционных, реанимационных и перевязочных отделениях хирургических отделений и госпиталей. Поэтому здесь силами бактериологов лечебного учреждения регулярно контролируют воздушную среду. Принято считать, что ОМЧ в 1 $м^3$ воздуха в операционной не должно превышать до операции 500, а после операции — 1000.

7.3.4. Микрофлора других объектов

Санитарный контроль за микробным загрязнением предметов обихода и других объектов внешней среды проводится в медицинских и детских учреждениях, в сети общественного питания, на предприятиях по производству продуктов питания, в эпидемических очагах инфекционных болезней.

В медицинских учреждениях санитарному контролю подлежат инструментарий и оборудование, перевязочный и шовный материалы, лекарственные препараты, растворы дезинфектантов и антисептиков, спецодежда, предметы ухода за больными. Главным фактором их контаминации условно-патогенными и патогенными микробами являются выделения больных людей или клинически здоровых микробоносителей.

Показателями микробной контаминации считают ***общее микробное число, численность БГКП, а также протея, энтерококка, синегнойных бактерий, стафилококка и различных видов патогенных бактерий*** на поверхностях исследуемых объектов.

7.4. МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОЭКОЛОГИЯ

В современной микробной экологии человека целесообразно выделить две субдисциплины: экзомикроэкологию и эндомикроэкологию.

Экзомикроэкология исследует взаимоотношения человека (как индивидуума, так и популяции людей) с микроорганизмами окружающей среды. В определенной мере часть этих задач решает санитарная микробиология, которая находится на стыке микробиологии, экологии, эпидемиологии и гигиены. При этом исходят из посылки, что человек и микроорганизмы окружающей среды совместно обитают в определенном участке биосферы (биотопе) с относительно стабиль-

ными абиогенными и биогенными характеристиками. Таким образом, в том или ином конкретном биотопе нашей планеты сформировалось и существует подвижное симбиотическое сообщество сравнительно однородной популяции людей и чрезвычайно гетерогенного комплекса микробных популяций.

Эндомикробиология (медицинская микроэкология) исследует симбиотические взаимоотношения между аутомикрофлорой и макроорганизмом, а также между сочленами микробного населения организма в норме и при патологии. На основе новых знаний разрабатываются методы и средства гармонизации этих взаимоотношений в интересах здоровья не только отдельного человека, но и сообщества людей в целом.

7.4.1. Естественная микрофлора тела человека

Понятно, что условия обитания микробов в человеческом организме не одинаковы. Микрофлора располагается только на коже и на слизистых оболочках полостей, сообщающихся с внешней средой (кроме матки и мочевого пузыря). Все ткани организма в норме совершенно свободны от микробов.

Микробиотопы организма существенно различаются по газовому составу воздушной среды, спектру ферментов и иммунных факторов, продуктов метаболизма и других биологически активных веществ, уровню pH среды, набору экзогенных веществ — эти и другие параметры различны в ротовой полости, пищеводе, желудке, тонком и толстом кишечнике, влагалище, носу, верхних и нижних дыхательных путях, на коже.

Необходимо учесть разнообразие клеточного состава этих поверхностей, ведь ***колонизация***, т.е. процесс заселения эпителия микробами, невозможен без предварительной адгезии. ***Адгезия*** (прикрепление, фиксация микроорганизмов) обусловлена лигандно-рецепторным сродством поверхностных структур эпителиальных клеток и микробов.

Поэтому в микроэкологическом отношении организм человека полибиотопен. Каждый биотоп вместе с соответствующим микробоценозом составляет небольшую экосистему. ***Естественная аутомикрофлора тела — единый природный комплекс, состоящий из совокупности гетерогенных микробоценозов в различных участках человеческого организма.*** Подобная интеграция целесообразна и необходима, она универсальна для живого мира и могла сформироваться только в результате отбора в процессе биологической эволюции.

Учитывая важнейшую роль в поддержании здоровья человека, симбиотическую аутомикрофлору тела иногда квалифицируют как своеобразный экстракорпоральный орган эукариотического макроорганизма. Собственных клеток тела существенно меньше числа насе-

ляющих его микробных клеток (более 10^{14} клеток, свыше 500 микробных видов).

Конечно, наши знания о составе естественной микрофлоры организма пока весьма приблизительны, ибо современная лабораторная техника еще не позволяет выявлять и идентифицировать полный спектр бактерий и грибов в микробоценозах (не говоря уже о вирусах).

7.4.2. Развитие естественной микрофлоры у новорожденных и детей раннего возраста

До рождения организм человека стерилен,— в утробе матери эмбрион защищен от вторжения микробов плацентарным и другими барьерами. Если же из-за травмы или болезни матери происходит прорыв бактерий или вирусов, то за этим неминуемо следует внутриутробное инфицирование плода. В эмбриональном периоде развития иммунные механизмы защиты от микробов отсутствуют, а неспецифические находятся еще в зачаточном состоянии.

Микрофлора пищеварительного тракта — самая многочисленная и самая значимая для поддержания здоровья человека. Особенно велика ее роль в развивающемся детском организме.

Существует два критических момента в процессе формирования кишечного микробоценоза. Первый — при рождении ребенка, когда в течение первых суток начинается колонизация стерильного кишечника, второй — когда ребенка отлучают от грудного вскармливания.

В ходе родов кожа и слизистые ребенка впервые соприкасаются с микрофлорой родовых путей матери, воздуха, рук медицинского персонала. Вследствие этого кишечная микрофлора первых дней жизни ребенка представлена ассоциацией аэробов (в основном факультативными анаэробами) — микрококками, энтерококками, клостридиями, стафилококками. К 4–5-му дню жизни видовой состав фекальной микрофлоры становится более разнообразным, появляются ассоциации неспорообразующих анаэробов (бифидобактерии, пропионибактерии, пептококки, пептострептококки, бактероиды и фузобактерии). Однако пока еще доминируют аэробные бактерии — лактобациллы, кокки, дрожжевые грибки.

Дальнейшее формирование аутомикрофлоры желудочно-кишечного тракта в основном зависит от типа вскармливания. При ***грудном вскармливании*** у здоровых доношенных детей уже в конце первой — начале второй недели жизни в микробоценозе толстого кишечника за счет опережающих темпов роста отчетливо преобладает *анаэробная* составляющая (более 95%). Оставшаяся часть (около 4–5%) представлена разнообразными факультативными аэробами: лактобациллами, эшерихиями, энтерококками, эпидермальным стафилококком, дрожжевыми грибками.

Подобная динамика развития полноценного кишечного микробоценоза новорожденных обусловлена действием комплекса стимуляторов роста бактерий в грудном молоке, в том числе так называемых бифидогенных факторов. Характерно подавляющее численное превосходство *бифидофлоры* над другими сочленами кишечного биоценоза — у здоровых детей первого года жизни ее доля составляет более 90%, остальная часть представлена другими бесспоровыми анаэробами (бактероиды, пептококки, вейлонеллы, фузобактерии и др.), лактобациллами, энтерококками, эшерихиями, стрептококками, стафилококками.

При ***искусственном вскармливании*** становление полноценной микрофлоры кишечника существенно задерживается. Фактически вместо эубиоза (т.е. нормального состава микробоценоза кишечника) *формируется дисбиоз*. Самые неблагоприятные последствия для здоровья ребенка имеет недоразвитие бифидофлоры из-за дефицита бифидогенных факторов. Стимуляторы роста бифидобактерий, как известно, содержатся *только в нативном женском* молоке.

Положение усугубляется отсутствием факторов местной антиинфекционной защиты кишечника ребенка — секреторного иммуноглобулина класса IgA (SIgA), лактоферрина, лизоцима, лактопероксидазы, интерферона, лимфоцитов и макрофагов. Эти уникальные компоненты также есть *только в женском грудном молоке*. Частота инфекционных заболеваний у детей, получавших пастеризованное молоко с добавлением искусственных смесей, в несколько раз выше, чем у детей, вскормленных материнским молоком.

7.4.3. Характеристика основных микробиоценозов организма человека

Ткани и полости, сообщающиеся с внешней средой — кожа, расположенные до голосовой щели отделы респираторного тракта, ротовая полость, желудочно-кишечный тракт, слизистые глаз и носа, вагина и др., — являются открытыми биологическими системами и колонизированы микроорганизмами. Микробоценозы слизистых различных биотопов отличаются по качественному составу и плотности населения.

Согласно современным представлениям, естественную микрофлору любых биотопов подразделяют по происхождению на ***постоянную*** (синонимы: *резидентная, индигенная, аутохтонная*) и ***случайную*** (синонимы: *транзиторная, аллохтонная*). Если постоянная микрофлора содержит представителей, специфичных для данного биотопа, то случайная состоит из особей, занесенных извне. Так, в желудочно-кишечном тракта могут оказаться посторонние микробы, попавшие с едой или питьем. Кожные покровы наиболее часто контаминируются случайной микрофлорой из окружающей среды.

Постоянная микрофлора конкретного биотопа относительно стабильна по составу. Вместе с тем состав и физиологическая роль микроорганизмов, ее составляющих, далеко не равнозначны. Поэтому в постоянной микрофлоре различают две фракции: облигатную и факультативную.

Облигатная микрофлора является главной составляющей любого микробоценоза, она противодействует заселению биотопа случайными микрорганизмами, участвует в процессах ферментации, иммуностимуляции, т.е. выполняет защитные или иные нормофизиологические функции. К облигатной микрофлоре *толстого кишечника* следует отнести бифидобактерии, лактобациллы, бактероиды, типичные кишечные палочки, пептострептококки, большинство видов бактероидов и энтерококков, зубактерии. Типичными представителями облигатной микрофлоры *влагалища* являются лактобациллы. Доля облигатной микрофлоры в составе здорового биоценоза в несколько раз выше, чем доля факультативной фракции. Например концентрация бифидобактерий в толстом кишечнике достигает 10^{11}–10^{12} КОЕ/г. (КОЕ — число колоний, вырастающих на/в питательной среде при посеве 1 г или 1 мл исследуемого образца. При определении концентрации микрорганизмов исходят из посылки, что каждая живая бактериальная клетка образует колонию.)

Факультативная микрофлора составляет меньшую часть постоянных обитателей биотопа, максимальная концентрация отдельных представителей не превышает 10^3–10^5 КОЕ/г. Если постоянная микрофлора проявляет себя преимущественно бродильной активностью (расщепление углеводов с образованием кислых продуктов), то факультативная фракция весьма активно участвует в гнилостных процессах (распад белковых веществ с образованием щелочных продуктов).

Безусловно, определенные нормофизиологические функции есть и у факультативных участников микробоценозов человека — противодействие случайной микрофлоре, участие в ферментативных и иных процессах, важных для локального биотопа и организма в целом. Однако пока еще малоисследованная полезная функция факультативной микрофлоры привлекает меньше внимания, чем участие в патологических процессах — нагноениях, некрозах и др. Вина за это возлагается на отдельных представителей факультативной микрофлоры, концентрация которых при дисбиозе превышает допустимые нормативы.

Если взять в качестве примера постоянную микрофлору *кишечного биотопа*, то к числу факультативных микрорганизмов следует отнести стафилококки, стрептококки, бациллы, клостридии (спорообразующие анаэробы), дрожжи и дрожжеподобные грибы, клебсиеллы,

протеи, серрации, атипичные кишечные палочки (лактозонегативные, гемолитические), отдельные виды бактероидов, фузобактерий, пептококков.

Таким образом, естественная микрофлора человека неоднородна не только по составу, но и по роли ее отдельных компонентов в норме и при патологии. В ней заложена способность не только к нормофизиологическим функциям, но и к агрессии по отношению к организму-хозяину. Однако последнее присуще только незначительной части симбиотической микрофлоры организма, котроую называют *остаточной*, или *оппортунистической*.

Микрофлора может быть связана с муциновым слоем (слизью), покрывающей пленкой эпителиальные клетки слизистых, или даже прочно ассоциирована с этими клетками при помощи рецепторного аппарата. Микрофлору, выстилающую плотным газоном стенки полостей, называют *мукозной микрофлорой* или М-флорой. Она является наиболее важной, так как представлена постоянной (резидентной) микрофлорой и выполняет нормофизиологические функции совместно с секреторными иммуноглобулинами, лизоцимом, системой лактопероксидазы, пищеварительными ферментами и другими гуморальными факторами макроорганизма.

Кроме того, есть микроорганизмы, которые слабо связаны со стенками полостей (*пристеночная микрофлора*) или вовсе не фиксируются в биотопе (*просветная микрофлора*). Вероятно, и эти компоненты играют определенную роль в катализации разнообразных биохимических реакций, важных для процесса пищеварения и моторно-эвакуаторной функции кишечника. Кроме того, даже небольшое количество случайно попавших в биотоп патогенных микробов при определенных обстоятельствах могут закрепиться на слизистой и даже внедриться в нее.

На поверхности **кожи** обнаруживается как аэробная, так и анаэробная флора. Бактерии образуют скопления под слоем ороговевших клеток эпидермиса, в устьях волосяных фолликулов, потовых и сальных желез. Концентрация и видовой пейзаж микрофлоры зависит от содержания кожного жира, влажности, pH среды. Секреция потовых желез, нейтральная pH и тепло способствуют увеличению микробной обсемененности. Так при посеве с 1 мм^2 кожи живота можно обнаружить около 10^4 КОЕ бактерий, с кожи предплечья — 10^3, причем в первом случае будут преобладать коринебактерии (дифтероиды), во втором — кокки.

В составе облигатной микрофлоры на кожных покровах доминируют разнообразные виды *Corynebacterium*, кокков (родов *Staphylococcus, Micrococcus)*, а из неспорообразующих анаэробов — *Propionibacterium acnes*. На коже здоровых людей обычно не вегетируют энтеробактерии, дрожжеподобные грибы, бактероиды. В качестве транзиторной микрофлоры они обнаруживаются в промежности.

У *новорожденных* поверхностный жировой слой довольно плотный, затем он уменьшается. Соответственно с возрастом уменьшает-

ся плотность нормальной микрофлоры и процентное содержание в ней липофильных дифтероидов (род *Corynebacterium)*. Наибольшую антагонистическую активность по отношению к случайным условно-патогенным бактериям проявляют дифтероиды и коагулазонегативные (т.е. непатогенные) стафилококки. Основные факторы их антагонизма — ненасыщенные жирные кислоты, которые образуются при микробном расщеплении кожного жира, а также метаболиты, обладающие избирательными антибактериальными свойствами.

У *взрослых* механизмы колонизационной защиты кожных покровов выражены наиболее отчетливо. В старческом возрасте они снижены, так как уменьшены секреция липидов кожи и концентрация дифтероидов. Поэтому у стариков концентрация естественной микрофлоры кожи повышена, причем чаще обнаруживаются несвойственные здоровой коже дрожжеподобные грибы рода *Candida* и грамотрицательные бактерии (кишечная палочка и др.).

Наибольший научный интерес и физиологическое значение для организма представляют биотопы с высокой плотностью микробного населения, такие, как ротовая полость, желудочно-кишечный тракт и вагина.

Микробоценоз ротовой полости разнообразен, в нем представлено около 300 видов, максимальная концентрация бактерий достигает 10^8–10^{11} жизнеспособных клеток в 1 г слюны, соскоба со слизистых, содержимом десневых карманов. Анаэробная микрофлора ротовой полости начинает быстро развиваться после прорезывания зубов у детей. В дёсневых карманах концентрация микробов может достигать 10^{11} КОЕ/мл, причем 99% из них являются анаэробами (бактероиды, фузобактерии, превотеллы и др.). Естественную аутофлору ротовой полости составляют также стафилококки (сапрофитные и эпидермальные), нейссерии, стрептококки, непатогенные коринебактерии, спирохеты, молочнокислые бактерии и другие микроорганизмы. Энтеробактерии (эшерихии, клебсиеллы, протеи и др.) в норме не обитают в ротовой полости. Обнаружение их или увеличение концентрации дрожжеподобных грибов рода *Candida* в ротовой полости является индикатором снижения уровня колонизационной резистентности. Более детально микробиологические аспекты дисбиоза и дисбактериоза ротовой полости изложены в главе 25.

Несмотря на анатомическую близость к ротовой полости, синусы, евстахиевы трубы, а также нижние дыхательные пути в норме стерильны.

Микрофлора пищевода и желудка у здоровых детей и взрослых не бывает постоянной, поскольку зависит от характера принимаемой пищи.

Обнаруживаемые в пищеводе бактерии соответствуют микробному пейзажу полости рта. Микробоценоз желудка беден. В основном он

Таблица 7.1

Концентрация нормальной микрофлоры в различных отделах желудочно-кишечного тракта (количество микробных клеток в 1 г или 1 мл содержимого биотопа, КОЕ/г)

Биотоп	Общее число бактерий	Аэробы	Анаэробы
Желудок	$0-10^3$	$0-10^3$	–
Тощая кишка	$0-10^5$	$0-10^4$	$0-10^2$
Подвздошная кишка	10^5-10^7	10^2-10^6	10^2-10^6
Толстая кишка	$10^{11}-10^{12}$	10^5-10^{10}	10^8-10^{12}

представлен лактобациллами, стрептококками, хеликобактерами и устойчивыми в кислой среде дрожжеподобными грибами. Содержание микробов в здоровом желудке не превышает 10^2–10^3 КОЕ/г (табл. 7.1).

Кишечник здоровых людей является биотопом с наиболее высокой плотностью микробной колонизации: на площади примерно 200 м^2 обитает ассоциация микроорганизмов численностью 10^{12}–10^{14} бактериальных клеток. Концентрация микробного населения и его видовой состав неодинаковы в различных отделах кишечника.

Микрофлора тонкой кишки здоровых детей и взрослых немногочисленна: в подвздошной кишке общее количество бактерий составляет 10^6 КОЕ/мл, а в остальных отделах тонкого кишечника — менее 10^4 КОЕ/мл. Если в двенадцатиперстной и тощей кишках преобладают стрептококки, лактобациллы и вейлонеллы, то в подвздошной — кишечная палочка и анаэробные бактерии. Заброс (транслокация) несвойственной этому биотопу микрофлоры из нижележащих отделов кишечника свидетельствует о глубоком дисбиозе кишечника.

В толстой кишке отмечается максимальная концентрация микробоценоза — 10^{12} КОЕ/г фекалий (табл. 7.2).

В толстом кишечнике обитают около 500 видов микроорганизмов, причем доля анаэробов составляет 97%. Слизистая толстой кишки плотным газоном заселена ассоциациями анаэробных и факультативно-анаэробных бактерий. Площадь микробной колонизации огромна, поэтому суммарная биомасса микробов составляет примерно 5% общего веса кишечника.

В норме концентрация представителей облигатной защитной микрофлоры в 1 г фекалий (просветная микрофлора) составляет:

— бифидобактерий — 10^8–10^{10} КОЕ (*Bifidobacterium bifidum, B. longum, B. adolescentis, B. breve, B. infantis*);

Таблица 7.2

Состав микрофлоры толстого кишечника
(общее число микробов — 10^{11}–10^{12})

Аэробы — 3–5% (в т.ч. факультативные анаэробы)		**Анаэробы — 95–97%**	
Энтеробактерии	10^4–10^8	Бактероиды	10^9–10^{12}
Энтерококки	10^5–10^8	Бифидобактерии	10^8–10^{12}
Стафилококки	10^5–10^7	Грамположительные кокки	10^8–10^{11}
Лактобактерии	10^6–10^9	Клостридии	10^3–10^5
Грибы	10^2–10^5	Эубактерии	10^9–10^{12}

— лактобактерий — 10^6–10^8 КОЕ *(Lactobacillus acidophilus, L. lactis, L. casei, L. delbrueckii)*;

— кишечных палочек (*Escherichia coli*), энтерококков (*Enterococcus faecalis*), энтеробактеров *(Enterobacter faecium)*, пептострептококков *(виды Peptostreptococcus)* — 10^7–10^8 КОЕ/г.

В зависимости от типа питания, образа жизни и состояния окружающей среды допускается наличие небольших (до 10^2–10^3 КОЕ/г) концентраций других видов микроорганизмов.

Естественная микрофлора пищеварительного тракта выполняет важные физиологические функции:

1. Обеспечение колонизационной резистентности слизистой.

2. Стимуляция процесса формирования иммунной системы у новорожденных и поддержание иммунного тонуса у взрослых при помощи мурамилпептида из клеточных стенок бактерий и других адъювантно-активных макромолекул.

3. Участие в обменных процессах (продукция энзимов для метаболизма белков, липидов, нуклеиновых и желчных кислот, поддержание водно-солевого баланса, синтез витаминов группы В, К и D, регуляция газовой среды кишечника).

4. Участие в биохимических процессах пищеварения (ферментация пищевых субстратов, регуляция моторно-эвакуаторной функции кишечника).

5. Инактивация экзогенных и эндогенных токсических продуктов при помощи механизмов биотрансформации и биодеградации.

Колонизационная резистентность — комплекс механизмов поддержания стабильности микробоценоза биотопов. Иными словами, аутомикрофлора вместе с факторами макроорганизма препятствует

закреплению и размножению микробов, несвойственных биотопу. Нарушить стабильность способны проникшие извне патогенные микробы, а также та незначительная часть микробоценоза, которая проявляет скрытые патогенные свойства при избыточном размножении.

Микробные факторы обеспечения колонизационной резистентности осуществляются различными способами. Важнейший из них — *межмикробный антагонизм*, который выражается в образовании продуктов, обладающих выраженной антагонистической активностью. В частности, это молочная, уксусная и другие кислоты, которые вырабатываются в процессе жизнедеятельности лактобактерий и бифидобактерий. Кислая среда, препятствует размножению гнилостной и патогенной флоры, нормализует перистальтику кишечника.

Значительное место в поддержании колонизационной резистентности принадлежит *конкуренции различных видов бактерий* за пищевые субстраты и сайты адгезии на клетках эпителия.

Резидентная флора играет исключительно важную роль в процессах пищеварения и обмена веществ, что обеспечивается возможностью выработки значительного количества ферментов (протеаз, липаз, амилаз, целлюлаз и др.). Эти энзимы непосредственно участвуют в метаболизме белков, жиров, углеводов, нуклеиновых, желчных кислот и холестерина, водно-электролитном обмене, в частности, способствуют всасыванию кальция.

Микрофлора вагины и вульвы зависит преимущественно от гормонального статуса, характер которого обусловливает метаболическую селекцию тех или иных микроорганизмов. Эстрогенные гормоны способствуют насыщению клеток цилиндрического эпителия вагины гликогеном, который утилизируется *Lactobacillus acidophilus* ранее известными как «палочки Додерлейна». При этом образуется значительное количество молочной кислоты. Кислая среда с pH около 4,0–5,0 препятствует колонизации многих микробов, поэтому видовой состав микробоценоза однообразен — кроме господствующих лактобактерий встречаются в незначительной концентрации непатогенные коринебактерии, бифидобактерии, кокки. Такой характер микробоценоза влагалища устанавливается с момента полового созревания в 12–13 лет и сохраняется до наступления менопаузы.

У девочек первых месяцев жизни также отмечается аналогичный характер микрофлоры половых органов.

Совершенно другой микробоценоз устанавливается с 2 до 12 лет, когда исчерпываются материнские эстрогенные гормоны и меняется биохимический профиль влагалищного эпителия — исчезает гликоген. Содержание лактобактерий, обладающих мощными антагонистическими свойствами и кислотообразованием, резко уменьшается, реакция среды меняется на слабощелочную. В этих условиях начинают доминировать кокковые бактерии, антагонистические свойства

которых не очень высоки. Поэтому девочки в возрасте до 12 лет наиболее подвержены риску бытового заражения венерическими инфекциями через контаминированные губки, мочалки и другие предметы личной гигиены.

Беременность, сопровождаемая эстрогенным взрывом, способствует дополнительному развитию лактобактерий и очищению родовых путей матери от микрофлоры, неблагоприятной для новорожденного. Напротив, прерывание беременности резко угнетает колонизационную резистентность эпителия вагины и вульвы, что чревато развитием гнойно-воспалительных процессов эндогенной природы. *Матка в норме всегда стерильна.*

При хронических вульвовагинитах и бактериальных вагинозах (дисбактериоз вагины и вульвы), при урогенитальной инфекции, на фоне сниженной численности защитной молочнокислой флоры независимо от возраста преобладает фекальная флора (кишечная палочка и другие грамотрицательные энтеробактерии, энтерококки), дрожжеподобные грибы рода *Candida*, стафилококки.

7.4.4. Эубиоз и дисбиоз

Естественная микрофлора тела является одним из первых барьеров, обеспечивающих неспецифическую резистентность и гомеостаз внутренней среды организма.

Эубиоз — нормальное состояние естественной микрофлоры организма. Эубиоз (нормобиоз) характеризуется стабильным составом микробоценозов и полным объемом их физиологических функций.

В норме, у здорового ребенка или взрослого естественная микрофлора тела достаточно устойчива к действию повреждающих факторов. Микробиологические нормативы, на которые ориентируются при определении состояния эубиоза, колеблются в широких пределах. Наиболее часты межпопуляционные различия, которые зависят от климато-географических условий обитания и традиций питания. То, что можно считать вариантом нормы микроэкологического статуса для коренного жителя Крайнего Севера, будет неприемлемо для аборигенов Кавказа или тропиков Африки. Важно учитывать особенности эубиоза у новорожденных или детей раннего возраста, взрослых и стариков.

Таким образом, состояние эубиоза (нормобиоза) есть проявление гармоничного симбиоза макроорганизма и его естественной микрофлоры, отражающее подвижное равновесии между ними.

Дисбиоз (дисбактериоз) характеризуется отклонениями в составе микробоценоза, существенно выходящими за пределы физиологической нормы. В итоге нарушается защитная и иные полезные

функции нормальной микрофлоры, возникает угроза развития местных и общих патологических процессов.

В России практические специалисты — врачи, бактериологи, эпидемиологи — чаще используют термин «дисбактериоз» вместо дисбиоза. Строго говоря, термин «дисбиоз» является более широким, чем «дисбактериоз», так как последний не включает в себя такие важные, но еще мало изученные компоненты естественных микробоценозов, как вирусы и простейшие. Однако практическая диагностика в основном базируется на исследовании около десятка бактериальных популяций и одной-двух разновидностей грибков. Поэтому термин «дисбактериоз» вполне объективно отражает сегодня суть дела и имеет полное право на существование.

Когда и почему возникает дисбиоз? Какие факторы повреждают нормальную микрофлоры у здорового человека?

Аутомикрофлора здорового человека относительно стабильна. Однако устойчивость микробоценозов прежде всего зависит от состояния биотопа, являющегося частью организма, с которым микрофлора интегрирована. Понятно, что аутомикрофлора новорожденного, грудного ребенка, старика, больного особенно чувствительна к действию повреждающих агентов.

В *раннем возрасте* формированию здоровой естественной микрофлоры препятствуют патология в родах, патология центральной нервной системы в послеродовом периоде, респираторная инфекция при искусственном вскармливании, пищевая аллергизация, позднее прикладывание к груди, ранний перевод на искусственное вскармливание.

Наиболее значимы факторы, которые способны нарушить эубиоз *как у детей, так и у взрослых*. К таковым следует отнести:

1) применение антибиотиков, гормонов, иммунодепресантов, лучевой терапии;

2) хирургические операции, особенно на органах желудочно-кишечного тракта;

3) длительное воздействие неблагоприятных экологических факторов в быту и на производстве;

4) острые кишечные инфекции, различные хронические заболевания желудка, кишечника и печени;

5) нервно-психический стресс;

6) голодание, нерациональное питание, авитаминоз.

Антибактериальные препараты воздействуют на состояние нормофлоры организма непосредственно (*первичный дисбиоз*). Остальные факторы, поражая макроорганизм, тем самым ухудшают условия для развития естественной микрофлоры в биотопах (*вторичный дисбиоз*). При этом возникает дефицит защитной микрофлоры — бифидобактерий, бактероидов, лактобактерий, полноценных эшерихий, энтерококков и других микроорганизмов.

В результате снижения колонизационной резистентности биотопа создаются благоприятные условия для приживления экзогенной патогенной микрофлоры. Происходит также избыточное размножение «оппортунистической» фракции микробоценоза с условно-патогенными потенциями. Ее мирное сосуществование с организмом хозяина прекращается как только возникают подходящие условия для размножения и колонизации.

При глубоком дисбиозе оппортунистические микробы-симбионты из мест своего обычного обитания распространяются в несвойственные им биотопы, в стерильные органы и ткани, вызывая нагноение и иные патологические процессы (феномен транслокации микрофлоры).

7.4.5. Лабораторная диагностика, коррекция и профилактика дисбиоза

Лабораторная диагностика дисбактериоза базируется на определении в клиническом образце *качественного и количественного состава микробов в микробоценозе конкретного биотопа*. Бактерии и грибы обычно идентифицируют только до рода (Bifidobacterium, Lactobacillus, Candida и др.).

Кроме того, *определяют концентрацию условно-патогенных микроорганизмов*, которых идентифицируют до вида. Обнаружение даже единичных особей *патогенных* агентов (возбудителей дизентерии, патогенных эшерихий, сальмонелл) четко свидетельствует о крайнем неблагополучии в биотопе. Анализ на дисбактериоз длителен, требует больших трудозатрат и материалов.

В соответствии с различными рекомендациями выделяют несколько степеней дисбактериоза (от 3 до 5), которые определяют по совокупности микробиологических и клинических данных. ***Дисбактериоз*** — это ***клинико-микробиологический синдром, который характеризует патологически измененное состояние микробоценоза конкретного биотопа — толстого кишечника, влагалища, ротовой полости, кожи и т.д.*** Микробиологическая часть заключения базируется на сравнении полученных результатов с рекомендуемыми нормативами. Принципиальные подходы к оценке глубины дисбактериоза иллюстрирует табл. 7.3.

Различают компенсированный и декомпенсированный дисбактериоз. Клинические проявления при компенсированном варианте могут быть слабо выражены (1–2 степени дисбиоза), иногда возможно самостоятельное выздоровление без специального лечения. Однако велик риск усугубление микробного дисбаланса с переходом в декомпенсированную форму (3–4 степени), когда самостоятельное излечение мало вероятно.

Таблица 7.3

Дисбактериоз кишечника у детей раннего возраста (бактериологические и клинические признаки)

Степень дисбак-териоза	Содержание облигатных анаэробов (Bifidobacterium, Bacteroides и др.)	Содержание факультативных анаэробов и аэробов (Lactobacillus, Escherichia)	Клинические проявления
1	без изменений (в норме – 10^8 и выше в 1 г.)	небольшое увеличение или уменьшение	норма
2	небольшое уменьшение (до 10^7 и ниже)	снижение Lactobacillus (10^5 и ниже)	легкая диспепсия
3	– существенное уменьшение анаэробов (ниже 10^6); – существенное увеличение атипичных E. coli (гемолитические, лактозоотрицательные); – колонизация биотопа одним из условно-патогенных микробов (Klebsiella, Proteus, Staphylococcus, Candida, Clostridium и др.)		понос, срыгивание
4	– глубокое угнетение защитной анаэробной и аэробной микрофлоры (ниже 10^4); – колонизация биотопа несколькими разновидностями условно-патогенной флоры; – появление в кишечнике патогенных бактерий (Shigella, Salmonella и др.); – транслокация кишечной микрофлоры за пределы биотопа		диарея, падение веса, инфекции

Декомпенсация микробоценоза проявляется глубоким дефицитом бифидобактерий и другой защитной микрофлоры (лактобактерий, типичных эшерихий), нарастающей экспансией и агрессией условно-патогенной аэробной флоры. Возможно появление в биотопе ассоциации из нескольких представителей таких микробов. Выраженность клинических симптомов нарастает, есть вероятность выхода условно-патогенных микроорганизмов за пределы своей экологической ниши с диссеминацией по всему организму. Оптимальная тактика при этом состоянии — подключение к базовой терапии препаратов-эубиотиков для нормализации микробоценоза в биотопе.

В комплексном лечении дисбиоза важное место отводится эубиотическим (пробиотическим) препаратам. Эти фармакологические препараты содержат концентрат живых лиофильно высушенных микробов с их метаболитами. Обладая высокой адгезивностью и антагонистической активностью, эубиотические бактерии колонизируют биотоп — кишечный тракт, влагалище, ротовую полость, постепенно вытесняя патогенные и условно-патогенные микроорганизмы. Через некоторое время происходит восстановление естественной аутомикрофлоры биотопа и возвращение к состоянию эубиоза. Введенные с

препаратом эубиотические штаммы со временем элиминируются из биотопа.

К эубиотикам относятся монокомпонентные препараты типа бифидумбактерина, лактобактерина, колибактерина, энтерола и др. Поликомпонентные препараты содержат два и более видов микробов: бификол, бифилакт, линекс, биоспорин.

Для восстановления нормальной микрофлоры кишечника и профилактики дисбиоза у лиц групп риска применяют также молочнокислые продукты, соки и другие пищевые продукты пробиотического действия (функциональное питание). Они обогащены физиологически активными живыми бифидобактериями, лактобактериями, пропионибактериями и другими микроорганизмами.

7.5. ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ СРЕДЫ НА МИКРООРГАНИЗМЫ

Микроорганизмы лучше адаптируются к экстремальным физическим и химическим факторам окружающей среды, чем животные и растения. Некоторые бактерии сохраняют жизнеспособность при температуре до +104°С, в диапазоне pH от 1 до 13, давлении от 0 до 1400 атм., длительно живут в бидистиллированной воде и в насыщенных растворах солей, не погибают при интенсивном облучении, в присутствии тяжелых металлов, антисептиков, антибиотиков, дезинфектантов. В то же время для каждого вида есть наследственно обусловленные оптимальные уровни и критические границы толерантности микробов к физическим, химическим и биологическим факторам.

7.5.1. Действие физических факторов

Температурный фактор. Температура имеет важнейшее значение для регуляции интенсивности метаболических реакций в микробных клетках. В зависимости от температурных предпочтений выделяют три группы микроорганизмов — ***термофилы, психрофилы*** и ***мезофилы***.

Для *термофилов* оптимальная температурная зона роста равна 50–60°С, верхняя зона задержки роста — 75°С, нижняя — 45°С. Термофилы не размножаются в организме теплокровных животных, поэтому медицинского значения не имеют.

Психрофилы имеют оптимальную температурную зону роста в пределах 10–15°С, максимальную зону задержки роста 25–30°С, минимальную 0–5°С. Психрофилы являются свободно живущими орга-

низмами или паразитами холоднокровных животных, но некоторые факультативные психрофилы, например иерсинии, клебсиеллы, псевдомонады вызывают заболевания у человека. Размножаясь в пищевых продуктах при температуре бытового холодильника, эти бактерии нередко повышают вирулентность.

Большинство патогенных бактерий — *мезофилы*. Они обитают главным образом в организме теплокровных животных. Оптимальная температура их роста колеблется в пределах 35–37°C, максимальная 43–45°C, минимальная 15–20°C. В окружающей среде могут переживать, но обычно не размножаются. При пониженной температуре подавляется образование факторов адгезии (пилей), капсул, антигенов вирулентности и других структурных элементов, отвечающих за патогенные свойства. Эти изменения обратимы, восстановление признаков происходит через 2–3 ч культивирования бактерий при оптимальной температуре.

Критические температурные параметры неодинаковы для разных микробов. Повреждающее действие высокой температуры связано с необратимой денатурацией ферментов и других белков, низкой — с разрывом клеточной мембраны кристаллами льда и приостановкой метаболических процессов. *Вегетативные формы* погибают при температуре 60–80°C в течение часа, при 100°C — мгновенно. *Споры* устойчивы к температуре 100°C, гибнут при 130°C. Нижняя температурная граница гибели некоторых патогенных агентов варьирует от –20°C до абсолютного нуля (вирус кори, бактериальные возбудители коклюша, сифилиса, менингококковой и гонококковой инфекции).

Реакция среды. Большинство симбионтов человеческого организма и возбудителей заболеваний хорошо растут при слабощелочной, нейтральной или слабокислой реакции. Для вибрионов, в том числе для возбудителя холеры, оптимальная величина pH 9–10, для большинства грибов — 5–6. При культивировании микроорганизмов на питательных средах специально поддерживается оптимальная для конкретного вида величина pH. В процессе размножения обычно происходит сдвиг pH в сторону кислой среды (реже наоборот), затем рост приостанавливается, при дальнейшем однонаправленном изменении реакции среды наступает гибель микроорганизмов.

Влажность и сухость. Рост и размножение микроорганизмов происходят во влажных средах. Вода необходима для пассивного и активного транспорта питательных веществ в клетку. Чувствительность микроорганизмов к высушиванию и сроки переживания на объектах внешней среды в этих условиях зависят от вида и формы возбудителя — с одной стороны, и свойств объекта — с другой.

Споры бактерий сохраняются длительное время, иногда многие годы. Микобактерии туберкулеза, вирус натуральной оспы, сальмонеллы, актиномицеты, грибы устойчивы к быстрому высушиванию

во внешней среде; менингококки, гонококки, трепонемы, бактерии коклюша, ортомиксовирусы, парамиксовирусы, герпесвирусы — чувствительны к нему.

Вместе с тем *для длительного хранения* бактерий, грибов и вирусов применяют технологию лиофильного высушивания. Суть ее заключается в замораживании культуральной биомассы в специальных средах при температуре от –50°С и ниже с последующим медленным удалением кристаллизованной воды в специальных вакуумных аппаратах. Высушенные в ампулах микробы хранятся в низкотемпературных холодильниках в течение нескольких лет и даже десятилетий. После добавления жидкости к сухой таблетке происходит регидратация бактериальных и грибковых клеток с восстановлением их ростовых и иных биологических свойств.

Ионизирующая радиация. Повреждающее действие радиации зависит прежде всего от ее характера, в меньшей степени от вида микроорганизма. Ионизирующая радиация может вызывать повреждения генома бактерий различной глубины — от несовместимых с жизнью дефектов до точечных мутаций. Для микробных клеток летальные дозы в сотни и тысячи раз выше, чем для животных и растений.

Повреждающее действие **УФ-излучения**, наоборот, в большей мере выражено в отношении микроорганизмов, чем животных и растений. УФ-лучи в относительно небольших дозах вызывают повреждения ДНК микробных клеток, которые приводят к мутациям или их гибели. Световое и инфракрасное излучение при интенсивном и длительном воздействии способно оказать повреждающее влияние лишь на некоторые микроорганизмы.

Ультразвук. Определенные частоты ультразвука способны вызывать деполимеризацию органелл микробных клеток, а также денатурацию входящих в их состав молекул в результате локального нагревания или повышения давления. Этот феномен используется для получения антигенов путем дезинтеграции микробной клетки.

Давление. Атмосферное давление даже в сотни атмосфер не оказывает существенного влияния на бактерии. Однако к осмотическому давлению, как повышенному, так и сниженному они высокочувствительны. При этом происходит разрыв клеточной мембраны и гибель микробных клеток (осмотический шок).

7.5.2. Действие химических факторов

Противомикробным действием обладают галогены и их соединения, окислители, кислоты и их соли, щелочи, спирты, альдегиды, соли тяжелых металлов, фенол и его производные, поверхностно-активные вещества, красители и многие другие химические веще-

ства. Они разрушают важнейшие структурные элементы — клеточную стенку, цитоплазматическую мембрану, нуклеиновые кислоты и инактивируют ферменты.

7.6. ЦЕЛИ И СПОСОБЫ АНТИМИКРОБНЫХ МЕРОПРИЯТИЙ

В основе методов профилактики и борьбы с инфекционными болезнями лежат разнообразные методы уничтожения или подавления жизнедеятельности патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Главная цель проводимых мероприятий — прерывание возможной передачи возбудителей от источников их выделения (больных или практически здоровых носителей) к восприимчивым индивидуумам.

Помимо прямого контакта или внутриутробного заражения плода от матери передача патогенных агентов может происходить через воздух, почву, воду, предметы обихода, пищевые продукты, изделия медицинского назначения. Как факторы передачи наиболее опасны изделия медицинского назначения, так как после использования на их поверхностях могут находиться большие концентрации патогенных агентов. Не менее заразительны выделения больных и инфицированных людей и животных.

Пренебрежение правилами обеззараживания в лечебных стационарах и поликлиниках является основной причиной возникновения так называемых ВБИ (внутрибольничных инфекций) — вирусных гепатитов В и С, постинъекционных гнойных осложнений, урогенитальных воспалительных инфекций, хирургической раневой инфекции.

Строгое соблюдение правил дезинфекции помещений и инвентаря, стерилизации инструментария и изделий медицинского назначения играют первостепенную роль в предупреждении ВБИ. Не менее важно бесперебойное обеспечение лечебно-профилактических учреждений одноразовым и многоразовым инструментарием. В настоящее время технические возможности позволяют снабжать аптеки, больницы и лаборатории одноразовыми стерильными шприцами с иглами, системами переливания крови, чашками Петри и другой лабораторной посудой из полимеров и металлов. Особенно необходимы эти изделия в военно-полевых условиях, в экстремальных ситуациях мирного времени, в экспедиционных работах.

Прямые антимикробные методы обозначают термином ***микробная деконтаминация***, под которой понимают *полное или частичное удаление микроорганизмов с объектов внешней среды и биотопов человека* с помощью факторов прямого повреждающего действия. Может быть выделено два принципиально различных типа деконта-

минации: *микробная деконтаминация неживых объектов* (стерилизация и дезинфекция) и *микробная деконтаминация живых организмов* (антисептика и химиотерапия).

7.6.1. Стерилизация и пастеризация

Стерилизация — освобождение объекта от всех микроорганизмов с помощью физических и/или химических способов.

Основными целями стерилизации являются:

1) предупреждение заноса микробных клеток в организм человека при медицинских вмешательствах;

2) исключение контаминации питательных сред и культур клеток при диагностических и научных исследованиях, в процессе биотехнологического производства;

3) предупреждение микробной биодеградации материалов, в том числе диагностических и лекарственных средств.

В медицинской практике стерилизации подвергают инструментарий, перевязочный, шовный материал, операционное белье, лекарственные препараты, питательные среды, лабораторную посуду, а при создании безмикробной среды — воздух операционных. Должны быть стерилизованы все изделия, которые соприкасались с раневой поверхностью, кожными покровами или слизистыми, контактировали с кровью или инъекционными препаратами.

После использования *большинство медицинских инструментов до стерилизации обязательно подвергают дезинфекции и предстерилизационной очистке.* Дезинфекцию при этом чаще всего проводят химическим методом с последующим отмыванием водой от дезинфицирующих веществ. Назначение предстерилизационной очистки — удаление белковых, жировых и иных загрязнений, а также примеси лекарственных препаратов. Применяют ручные или механизированные способы очистки с применением разрешенных для конкретного изделия моечных средств — перекись водорода со средствами типа «Лотос», «Прогресс» или «Биолот». После этого можно приступать к стерилизации медицинских инструментов.

Различают следующие методы стерилизации:

1. Физические — термический, радиационный и механический.
2. Химические — растворами и газами.

Выбор метода стерилизации зависит от свойств материалов, из которых состоят стерилизуемые изделия, их размера и других конструктивных особенностей, от обязательности или необязательности длительного сохранения стерильности и от других факторов.

Наиболее надежной и хорошо контролируемой является ***термическая стерилизация*** предметов. Обработка насыщенным водяным

паром под давлением в паровых стерилизаторах (по-старому в автоклавах) в некоторых случаях более предпочтительна, чем воздействие сухого жара в воздушных стерилизаторах (по-старому в суховоздушных стерилизаторах). Чем выше давление, создаваемое в герметично закрытой камере, тем выше температура пара.

Паровой стерилизации подвергают изделия из текстиля (белье, вату, бинты, шовный материал), из резины, стекла, некоторых полимерных материалов, питательные среды, лекарственные препараты. Обычно используют следующие температурные режимы и экспозицию:

— 110°С (давление 0,5 кгс/см^2) в течение 180 мин.,
— 120°С (давление 1,1 кгс/см^2) в течение 45 мин.,
— 132°С (давление 2,0 кгс/см^2) в течение 20 мин.

При *воздушной стерилизации* (изделия из металла, стекла, силиконовой резины) принято использовать следующие температурные режимы и время выдержки стерилизуемого материала:

— 160°С в течение 150 мин.,
— 180°С в течение 60 мин.

В настоящее время в медицинские учреждения поступают новые, технически более совершенные марки аппаратов для паровой и воздушной стерилизации. В них имеются системы индикации режима стерилизации, аварийной сигнализации, автоматические устройства блокировки дверей, в отличие от обычных аппаратов отклонения от заданной температуры минимальны. Это позволяет уменьшить время паровой стерилизации до 3–10 мин., воздушной — до 30–120 мин.

По отношению к термолабильным предметам допустима *дробная (многоразовая) стерилизация* текучим паром в автоклаве при 100°С или нагревание в водяной бане при 60–80°С. В частности, такой режим применяют при стерилизации сывороток и углеводов, некоторых лекарственных препаратов.

Кипячение, даже с содой, не может быть отнесено к стерилизации, так как эта процедура не освобождает объект от всех микроорганизмов.

Химическую стерилизацию используют при обработке крупногабаритных изделий, приборов, а также аппаратов и термолабильных изделий, которые можно повредить высокой температурой — эндоскопы, изделия из резин, полимерных, титановых сплавов.

Для *газовой («холодной») стерилизации* обычно используют герметичные контейнеры, которые заполняют парами летучих веществ: формальдегида, смесью паров формальдегида и этилового спирта, окисью этилена, смесью окиси этилена и бромистого метила.

Для *химической стерилизации растворами* применяют отечественные (первомур — смесь пергидроля и муравьиной кислоты, перекись водорода, бианол, анолит) и импортные препараты (гигасепт, глутаровый альдегид, дюльбак).

Радиационный метод, или *лучевую стерилизацию* γ-лучами, применяют обычно на специальных установках при промышленной стерилизации изделий однократного применения — полимерных шприцев, систем для переливания крови, полимерных чашек Петри, пипеток и других термолабильных и хрупких средств.

Для *частичного* обеспложивания воздуха в микробиологических лабораториях, боксах и операционных применяют обработку помещения *ультрафиолетовыми лучами* с помощью бактерицидных ламп различной мощности. Поскольку при этом нет полного освобождения от микробов, стерилизации воздуха не происходит. Однако УФЛ широко используются в комплексе мер асептики.

Стерилизацию фильтрованием (механический метод стерилизации) применяют в тех случаях, когда высокая температура может резко ухудшить качество стерилизуемых жидких материалов (питательные среды, сыворотки, антибиотики, реактивы, лекарства, бактериофаги). Его также широко используют для очистки бактериальных токсинов, фагов и различных продуктов жизнедеятельности бактерий от живых и мертвых микробных тел. Стерилизация достигается пропусканием растворов и взвесей через мелкопористые фильтры различных типов, задерживающих только клеточные формы микробов и их споры.

Пастеризация — это щадящий способ температурной обработки, при котором инактивируется большинство вегетативных форм бактерий, однако споры бактерий сохраняются. Используют для обезвреживания некоторых жидких продуктов (молока, вина, пива, соков) с целью сохранить их вкусовые качества и ценные компоненты (витамины, ферменты), а также для продления срока их хранения.

В зависимости от вида продукта пастеризуют при 60–70°C в течение 20–30 мин. (*низкая пастеризация*), при 72°C от 15 до 60 с (*высокая пастеризация*), или в течение нескольких секунд при 90°C (*мгновенная пастеризация*). Всегда после окончания режима пастеризации жидкость быстро охлаждают, предупреждая пророст споровых форм. Очень редко, с помощью специальных аппаратов применяют *ультрапастеризацию*, моментально повышая за 0,75 с температуру жидкости до 150°C.

7.6.2. Дезинфекция

Дезинфекция — это мероприятия, направленные на уничтожение или резкое подавление численности патогенных и условно-патогенных микроорганизмов во внешней среде, в том числе на объектах и изделиях. Целью дезинфекции является предупреждение или прерывание передачи возбудителей от инфицированного индивидуума к интактному через объекты внешней среды (факторы передачи).

Используют следующие методы дезинфекции:

— химический,

— физический (кипячение, сжигание, ультрафиолетовое облучение),

— механический (встряхивание, обработка пылесосом, влажная уборка, проветривание, стирка, мытье),

— биологический.

Практически чаще всего используют комбинацию нескольких методов в различных сочетаниях с учетом конструкции объекта, предполагаемой массивности микробной контаминации, свойств дезинфектанта и т.п.

В медицинских учреждениях преимущественно применяют для дезинфекции достаточно высокие концентрации химических веществ, обладающих широким спектром микробоцидного действия (дезинфектанты), реже используют сочетание дезинфектанта с температурной обработкой (пароформалиновая дезинфекция) или вместе с поверхностно-активными веществами.

В очагах туберкулеза, сибирской язвы, кишечных инфекций дезинфекция проводится с учетом свойств конкретных возбудителей соответствующих заболеваний. В больничных учреждениях обычно уничтожают широкий спектр патогенных и условно-патогенных микроорганизмов.

Применяют следующие *основные группы дезинфектантов:*

— галоидсодержащие, в них активно действующим антимикробным началом являются хлор, бром или йод (хлорная известь, соли гипохлорита кальция, хлорамины, дихлорциануровая кислота и ее соли, аквасепт, йодонат, дибромантин);

— кислородсодержащие на основе перекисных содинений или перекиси водорода (первомур, ПВК, перамин, виркон, дезоксон);

— поверхностно-активные вещества на основе четвертично-аммониевых соединений и амфотерных поверхностно-активных соединений (аламинол, дюльбаль, санифект, велтолен, гермосепт, септодор);

— гуанидины и их смеси с ПАВ (демос, катасепт, лизоформин, пливасепт);

— спирты (на основе этанола);

— альдегидосодержащие на основе глутарового или янтарного альдегидов (гигасепт, сайдекс, глутарал, альдесол);

Фенол как дезинфектант запрещен из-за высокой токсичности и стойкого раздражающего запаха. Сейчас из фенолсодержащих препаратов рекомендуют новые его разновидности, лишенные указанных отрицательных свойств (амоцид и др.).

Если дезинфекции подвергали изделие медицинского назначения — эндоскопы, катетеры и тому подобные объекты, то после окон-

чания дезинфекции они обязательно должны быть промыты водой от дезинфектанта.

7.6.3. Антисептика

Антисептика — это система мер быстрого подавления патогенных и условно-патогенных микроорганизмов на коже и слизистых хирургов, оперируемых, раненых, персонала особо чистых производств. В принципе антисептика — это щадящая дезинфекция применительно к человеку.

Главным методом антисептики является обработка *химическими* веществами с преимущественно микробостатическим действием (антисептиками) с учетом спектра их антимикробной активности и чувствительности конкретных возбудителей.

Деконтаминация с помощью антисептиков предполагает подавление патогенных и условно-патогенных микроорганизмов при условии сохранения непатогенных видов. Исключение составляет антисептическая обработка рук оператора и операционного поля пациента, а также ран и слизистых оболочек иммунодефицитных лиц, когда необходимо более полное освобождение названных биотопов от всех микроорганизмов.

Для антисептики применяют растворы кислородсодержащих препаратов на основе перекисных соединений или перекиси водорода (первомур и др.), спирты и другие вещества с дезинфицирующими свойствами. Конечно, концентрация антисептических растворов существенно ниже, чем при использовании в качестве дезинфектантов.

7.6.4. Асептика

Асептика включает в себя совокупность прямых (стерилизация, дезинфекция, антисептика) и косвенных методов воздействия на микроорганизмы с целью создания безмикробной зоны или зоны с резко сниженной численностью микроорганизмов для проведения медицинских вмешательств и исследовательских манипуляций.

Асептическая практика применяется в операционных, родильных залах, лабораторных и инфекционных боксах, в абактериальных палатах для лиц с трансплантированными органами, в кювезах для недоношенных детей, в биотехнологии и производстве многих лекарственных препаратов. О прямых методах воздействия на микроорганизмы уже сказано выше. Косвенные, т.е. разделительные меры, заключаются в использовании герметичных перегородок в рабочих помещениях, специальной одежды и обуви, перчаток, системы воздушных бактериальных фильтров.

Таким образом предупреждают или снижают риск заноса микроорганизмов в «рабочую зону», которой может быть операционная рана, питательная среда, пищевой продукт, инъекционный раствор, организм ослабленного больного.

Вопросы для самоконтроля:

1. Опишите типы экологических взаимотношений партнеров в биоценозах?
2. Раскройте содержание терминов: популяция, биотоп, микробоценоз, экосистема, биосфера.
3. Какова глобальная роль свободноживущих микроорганизмов в природе?
4. Возрастные особенности формирования естественной микрофлоры у новорожденных и детей раннего возраста (на примере микробоценозов кишечника и вагины).
5. Основные физиологические функции естественной микрофлоры тела на примере кишечного тракта.
6. Что такое колонизационная резистентность?
7. Содержание понятий «эубиоз» и «дисбиоз».
8. Перечислите основные факторы, провоцирующие развитие дисбиоза.
9. Охарактеризуйте основные клинико-микробиологические критерии компенсированного и декомпенсированного дисбиоза.
10. Основные методы и средства коррекции естественной микрофлоры в биотопах. На чем основано терапевтическое действие эубиотических препаратов?
11. Какие физические и химические факторы наиболее сильно подавляют микроорганизмы?
12. Какие цели ставятся при проведении стерилизации, дезинфекции, антисептики, асептики.
13. Назовите основные способы стерилизации.
14. Перечислите основные методы дезинфекции.
15. Чем отличается антисептика от дезинфекции?

ГЛАВА 8
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ХИМИОТЕРАПИИ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Под химиотерапией инфекционных заболеваний понимают лечение бактериальных, вирусных, грибковых и протозойных заболеваний с помощью химиотерапевтических средств, т.е. таких лекарственных препаратов, которые избирательно подавляют развитие и размножение соответствующих инфекционных агентов в организме человека. В том случае, когда эти же лекарственные средства используют с профилактической целью, данный метод называют *химиопрофилактикой*.

В настоящее время получено огромное количество различных противомикробных и противопаразитарных химиотерапевтических средств, отличающихся друг от друга по своему происхождению, химическому составу, механизмам антимикробного действия и другим свойствам. Однако их объединяют ряд общих признаков.

1. Отсутствие заметного токсического действия на организм человека. Безвредность данных препаратов устанавливается с помощью химиотерапевтического индекса — отношения минимальной терапевтической дозы к максимально переносимой. При индексе меньше единицы препарат может быть использован для лечения соответствующей инфекции, поскольку его терапевтическая доза будет меньше переносимой дозы.

2. Выраженное избирательное действие на микроорганизмы, определяемое антимикробным спектром того или иного химиотерапевтического препарата. Одни из них преимущественно действуют на грамположительные бактерии, другие — на грамотрицательные, третьи — на простейшие, четвертые — на грибы и т.д.

3. Бактериостатическое или бактерицидное действие. В первом случае речь идет о полном или частичном подавлении роста и размножения бактерий, во втором — об их гибели. Однако в конечном итоге бактериостатическое действие также приводит бактерии к гибели. Аналогичное действие химиотерапевтических средств на другие микроорганизмы называют микробостатическим или микробоцидным. Механизмы антимикробного действия данных препаратов различны, но, как правило, связаны с

подавлением жизненно важных метаболических реакций, протекающих в микробных клетках.

4. Постоянное формирование лекарственно-устойчивых форм микроорганизмов. Механизмы этого явления разнообразны. Однако к одним из этих препаратов резистентные микроорганизмы образуются быстро, к другим — медленно.

Перечисленные признаки указывают на то, что химиотерапевтические средства принципиально отличаются от антисептиков и дезинфектантов (*см. 7.7*).

8.1. ВАЖНЕЙШИЕ ГРУППЫ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ И МЕХАНИЗМЫ ИХ АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ

Первые химиотерапевтические средства были синтезированы основоположником химиотерапии П. Эрлихом. Это были производные мышьяка — сальварсан и неосальварсан. Исследования, проведенные П. Эрлихом, позволили установить, что структурные особенности химического вещества (например, радикалы) определяют характер его противомикробного действия. Так, ОН-группы синтезированного соединения усиливали его спирохетоцидные, а NH_2-группы — трипаноцидные свойства. Синтез сальварсана подтвердил правильность рецепторной концепции П. Эрлиха, поскольку механизм его спирохетоцидного действия был связан с наличием у спирохет меркапторецепторов, которые, специфически фиксируя препарат, приводили их к гибели.

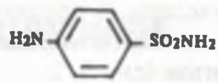
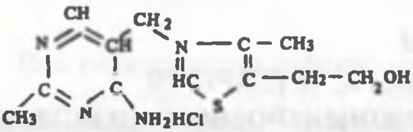
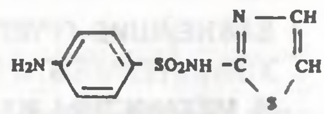
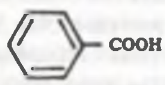
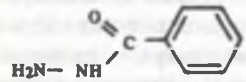
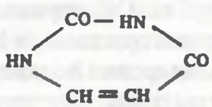
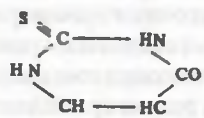
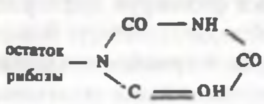
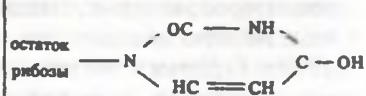
В 1932 г. Г. Домагк синтезировал первый сульфаниламидный препарат — стрептоцид, явившийся родоначальником многочисленной группы *сульфаниламидных соединений* (табл. 8.1), к которым чувствительны ряд грамположительных и грамотрицательных бактерий, прежде всего пиогенные стрептококки, менингококки, гонококки, кишечная палочка и др. Кроме того, некоторые сульфаниламиды активны в отношении хламидий — возбудителей трахомы.

К данным препаратам резистентные формы бактерий образуются сравнительно медленно.

Изучение механизма антибактериального действия сульфаниламидов привело к открытию *антиметаболитов — соединений, имеющих структурное сходство с важнейшими метаболитами, участвующими в анаболических или катаболических реакциях*. Включение антиметаболита в эти реакции приводит соответствующие бактерии к задержке размножения и последующей гибели. Сульфаниламиды оказывают бактериостатическое действие, которое главным образом

Таблица 8.1

Некоторые метаболиты и их аналоги (антиметаболиты), блокирующие определенные метаболические реакции у микроорганизмов

Метаболит	Антиметаболит
Парааминобензойная кислота	 Сульфаниламид (стрептоцид)
 Тиамин (витамин B_1)	 Норсульфазол
 Изоникотиновая кислота	 Изониазид (гидразид никотиновой кислоты)
 Урацил	 Тиоурацил
 Уридин	 Дезоксиуридин

связано с нарушением в клетках микроорганизмов синтеза жизненно важных для них ростовых веществ — фолиевой, дигидрофолиевой кислот и др., в молекулу которых входит парааминобензойная кислота (ПАБК). Структурное сходство сульфаниламидов с ПАБК приводит к тому, что бактерии усваивают первые вместо вторых, в результате чего блокируются соответствующие метаболические реакции. Некоторые лекарственные препараты, содержащие ПАБК (новокаин и др.), обладают выраженным антисульфаниламидным действием.

Наиболее широко применяются ***норсульфазол, сульфазин, сульфадимезин, сульфапиридазин, сульфамоно-*** и ***сульфадиметоксин***. К трем последним препаратам чувствительны стафилококки, стреп-

кокки, гонококки, менингококки, эшерихии, шигеллы, а также хламидии трахомы. Бактерии, резистентные к другим сульфаниламидам, сохраняют эти свойства и к упомянутым препаратам.

В урологической практике применяют уросульфан, который обладает бактериостатическим действием в отношении стафилококков и кишечных палочек, являющихся возбудителями циститов, пиелитов, пиелонефритов.

К комбинированным сульфаниламидным препаратам относится ***бактрим*** (синоним ***бисептол, сульфатон***), представляющий собой смесь двух веществ: сульфаметоксазола и производного диаминопиримидина — триметоприма. Он оказывает бактерицидное действие на многие грамположительные и грамотрицательные бактерии, в частности стафилококки, гонококки, клебсиеллы, протей, шигеллы, синегнойную и гемофильную палочки риккетсии, хламидии.

Помимо сульфаниламидов, к антиметаболитам относятся аналоги изоникотиновой кислоты, азотистых оснований и других соединений.

Из *аналогов изоникотиновой кислоты* в качестве химиотерапевтических препаратов применяются ее ***гидразиды — изониазид, фтивазид, тубазид, метазид*** и другие производные тиамида изоникотиновой кислоты — этионамид, протионамид, а также производные парааминосалициловой кислоты (ПАСК), обладающие бактериостатическим действием в отношении микобактерий туберкулеза.

Однако антиметаболиты нашли сравнительно ограниченное применение в химиотерапии инфекционных заболеваний.

Это объясняется однотипностью многих биохимических реакций, протекающих в клетках бактерий и человека, поэтому один и тот же антиметаболит блокирует образование продуктов, необходимых для жизнедеятельности микробов и определенных клеток организма человека.

К ДНК-тропным препаратам относятся *производные нитрофурана:* ***фурациллин, фуразолидон*** и др., а также ***производные нитроимидазола: метронидазол, тинидазол.*** Они оказывают микробоцидное действие на ряд грамположительных (стафилококки, стрептококки, клостридии раневой инфекции) и грамотрицательных бактерий (шигеллы, сальмонеллы), а также хламидии и некоторые простейшие (трихомонады). Особенности химического строения производных нитрофурана отражаются на их антимикробном спектре. Резистентность бактерий к данным препаратам развивается медленно и является перекрестной, т.е. бактерии, резистентные к одному из производных, приобретают устойчивость к другому.

К препаратам, блокирующим процессы репликации и транскрипции относится *группа хинолонов:* ***налидиксовая кислота, производные хинолонтрикарбоновых кислот и производные хиноксалина.*** Из них наиболее активны в отношении грамотрицательных бактерий

(энтеробактерии, синегнойная палочка) хинолоны третьего поколения: норфлоксацин, офлоксацин и др.

К препаратам, нарушающим энергетический метаболизм, относятся ***производные оксихинолина.***

Из производных тиосемикарбазона применяется фарингосепт, обладающий бактериостатической активностью в отношении пиогенного стрептококка и других гемолитических стрептококков, встречающихся на миндалинах при ангинах, а также в полости рта при гингивитах и стоматитах.

8.2. АНТИБИОТИКИ

8.2.1. Общая характеристика

В 1942 г. появился термин «антибиотик», которым стали обозначать образуемые различными микроорганизмами химические вещества, способные подавлять размножение и вызывать гибель определенных бактерий. Более полным является определение антибиотиков как высокоактивных метаболических продуктов микроорганизмов, избирательно подавляющих рост различных бактерий и некоторых опухолей. Наряду с микроорганизмами некоторые растения (чеснок, лук и др.) также образуют антибактериальные вещества, называемые *фитонцидами.*

Появление термина «антибиотик» было связано с получением и внедрением в лечебную практику нового химиотерапевтического препарата пенициллина, активность которого в отношении патогенных (гноеродных) кокков и некоторых других бактерий значительно превосходила действие сульфаниламидов.

Антибиотики классифицируют и характеризуют по происхождению, химическому составу, механизмам ингибирующего действия на микробные клетки, антимикробным спектрам, частоте возникновения антибиотико-резистентных форм бактерий.

Антибиотические вещества образуют некоторые бактерии, многие актиномицеты и грибы.

По ***химическому составу*** антибиотики подразделяют на несколько групп.

1. Бета-лактамные антибиотики, или бета-лактамы, — азотсодержащие гетероциклические соединения с бета-лактамным кольцом. К ним относится группа пенициллина, включающая природный антибиотик бензилпенициллин и полусинтетические пенициллины (метициллин, оксациллин, ампициллин, карбенициллин и др.), и группа цефалоспорина (цефалоридин, цефалексин, цефамандол, цефурексим, кефзол, мандал, кефлор и др.).

2. Тетрациклин и его полусинтетические производные: окситетрациклин, хлортетрациклин, морфоциклин, метациклин, диоксициклин, вибромицин. Они состоят из четырех конденсированных бензольных колец с разными радикалами.

3. Аминогликозиды, к которым относятся группа стрептомицина (стрептомицина сульфат и его производные, состоящие из трех частей: стрептидина, стрептозы, N-метилглюкозамина) и аминогликозидные антибиотики, содержащие дезоксистрептамин: неомицин, мономицин, канамицин, амикацин, пентамицин, тобрамицин и др.

4. Макролиды — соединения, содержащие макроциклическое лактонное кольцо (эритромицин, олеандомицин).

5. Левомицетин, представляющий собой синтетическое вещество, идентичное природному антибиотику хлорамфениколу, в состав которого входит нитрофенил, дихлорацетамин и пропандиол.

6. Рифамицины, к которым относятся природный антибиотик рифамицин и его полусинтетическое производное рифампицин. Они имеют своеобразную сложную химическую структуру, в которую входит макроциклическое кольцо.

7. Полиеновые антибиотики — нистатин, леворин, амфотерицин В, имеющие несколько сопряженных двойных связей — (CH=CH)–.

Наряду с перечисленными имеются антибиотики другого химического состава, которые реже используются в лечебной практике.

По ***механизму антимикробного действия*** антибиотики в значительной мере отличаются друг от друга. «М и ш е н ь ю» для их ингибирующего действия служит одна или несколько биохимических реакций необходимых для синтеза и функционирования определенных морфологических компонентов или органелл микробной клетки: клеточной стенки, цитоплазматической мембраны, рибосом, нуклеоида (табл. 8.2).

Таблица 8.2

Механизмы ингибирующего действия важнейших групп антибиотиков на микробную клетку

Антибиотики	«Мишень», на которую направлено ингибирующее действие
Пенициллины, цефалоспорины, циклосерин, ванкомицин	Ингибирование синтеза клеточной стенки
Полиеновые антибиотики, полимиксины	Нарушение функций цитоплазматической мембраны
Аминогликозиды, тетрациклины, хлорамфеникол (левомицетин), макролиды	Ингибирование синтеза белка на рибосомах
Рифамицины	Ингибирование ДНК-зависимой РНК-полимеразы

Антибиотики оказывают на микроорганизмы, главным образом на бактерии, бактериостатическое или бактерицидное действие, которое определяется in vitro.

Большинство антибиотиков (бензилпенициллин и его полусинтетические производные, все цефалоспорины, аминогликозиды, рифамицины) обладает бактерицидным действием. Некоторые антибиотики (левомицетин, тетрациклин, макролиды) оказывают на чувствительные к ним бактерии бактериостатическое действие.

Антимикробное (антибактериальное) действие антибиотиков ранее измеряли в единицах действия (ЕД), содержащихся в 1 мл раствора препарата или в 1 мг химически чистого вещества. В настоящее время активность подавляющего большинства антибиотиков измеряется в микрограммах. Обычно 1 мкг химически чистого препарата соответствует 1 ЕД. Для некоторых ранее выпускавшихся антибиотиков соотношения другие. Так, в 1 мкг натриевой соли бензилпенициллина содержится 1,67 ЕД, а в 1 мкг нистатина — не менее 4 ЕД.

По ***антимикробному спектру*** антибиотики подразделяют на две группы: узкого и широкого спектра действия. К антибиотикам узкого спектра относится бензилпенициллин, оказывающий губительное действие только на гноеродные кокки, некоторые грамположительные бактерии и спирохеты. В эту же группу входят полиеновые антибиотики нистатин, леворин, амфотерицин В, обладающие антимикробным действием только в отношении некоторых грибов и простейших.

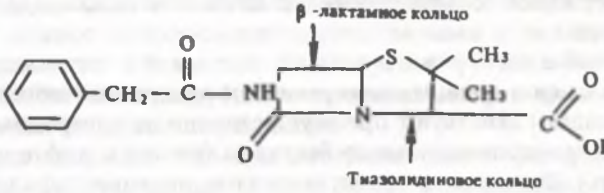
Антибиотики с широким спектром действия обладают антибактериальной активностью в отношении многих грамположительных и грамотрицательных бактерий. Некоторые из них эффективны в отношении риккетсий, хламидий, микоплазм и др. К антибиотикам широкого спектра действия относятся цефалоспорины третьего поколения, тетрациклины, левомицетин, аминогликозиды, макролиды, рифампицин.

8.2.2. Важнейшие группы антибиотиков и механизмы их противомикробного действия

8.2.2.1. Антибиотики, подавляющие синтез бактериальной клеточной стенки

К данной группе относятся пенициллины, цефалоспорины, циклосерин.

Пенициллины. Продуцентами пенициллинов являются плесневые грибы рода Penicillium, которые в процессе своей жизнедеятельности образуют несколько видов пенициллинов. Наиболее активным природным соединением является бензилпенициллин.



Остальные виды пенициллинов отличаются от него тем, что вместо бензильного радикала (C_2H_5—CH_2—) содержат другие. Основной частью молекулы всех пенициллинов является 6-аминопенициллановая кислота — сложное гетероциклическое соединение, состоящее из бета-лактамного и тиазолинового колец. Путем присоединения к пенициллановой кислоте вместо бензильного различных других радикалов были получены полусинтетические пенициллины нескольких поколений, отличающиеся друг от друга антибактериальными спектрами, устойчивостью к пенициллиназе и фармакологическими свойствами.

К 1-му поколению относят: а) природные пенициллины — бензилпенициллин; б) пенициллиназоустойчивые полусинтетические пенициллины — метициллин, оксациллин, клоксациллин, нафциллин; в) аминопенициллины с расширенным антибактериальным спектром — ампициллин (петриксил), амоксициллин, циклоциллин и др. Ко 2–3-му поколениям относят карбоксипенициллины: карбенициллин, тикарциллин и др. К 4-му поколению относят пенициллины с широким антибактериальным спектром: а) уреидопенициллины — мезлоциллин, азлоциллин, пиперациллин и др.; б) амидинопенициллины — мециллам и др.

Пенициллиназа относится к ферментам бета-лактамной группы, вызывающим гидролитическое расщепление бета-лактамного кольца с образованием неактивной бензилпенициллановой кислоты. Как уже отмечалось (*см. 6.2.1*), синтез данного фермента контролируется R-плазмидами многих видов бактерий. Устойчивость метициллина, оксациллина и других полусинтетических пенициллинов к пенициллиназе связана с защитой бета-лактамного кольца от данного фермента.

Особый интерес приобретают фиксированные комбинации пенициллинов с ингибиторами β-лактамаз. К ним относятся препараты из группы клавулановой кислоты (тиметин, амоксиклав) и производные сульфонов пенициллановой кислоты (сульбактам, тазобактам). Эти комбинации позволяют устранить многие недостатки пенициллинов при сохранении их достоинств.

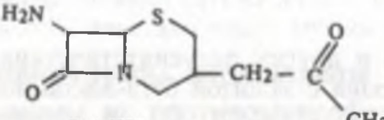
Резистентность стафилококков к пенициллинам связана с продукцией пенициллиназы, а грамотрицательных бактерий — с данным ферментом, а также с особенностями структуры и химического со-

става (содержание большого количества липополисахарида) в клеточных стенках.

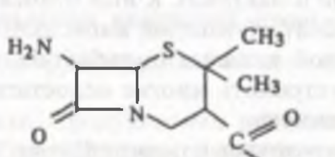
Антибактериальный спектр пенициллины 1-го поколения имеют сравнительно узкий: природные антибиотики (бензилпенициллин) действуют преимущественно на гноеродные кокки и некоторые грамположительные бактерии (палочки дифтерии, клостридии и др.). Типичными представителями противостафилококковых пенициллинов являются оксациллин, метициллин и другие препараты, устойчивые к пенициллиназе. У аминопенициллинов и карбоксипенициллинов антибактериальный спектр расширен за счет ряда грамотрицательных бактерий (прежде всего энтеробактерий). Уреидопеницилинны активны в отношении некоторых других грамотрицательных бактерий, в частности псевдомонад. Это объясняется их способностью проникать через липополисахарид клеточных стенок грамотрицательных бактерий.

Механизм антибактериального действия всех пенициллинов связан с нарушением синтеза клеточной стенки за счет блокирования реакции транспептидирования в синтезе пептидогликана (муреина). Таким образом, пенициллин действует только на растущие клетки, в которых осуществляются процессы биосинтеза пептидогликана. Вследствие отсутствия пептидогликана в клетках человека пенициллин не оказывает на них ингибирующего действия (отсутствие «мишени»), т.е. является практически нетоксичным антибиотиком.

Цефалоспорины — большая группа природных антибиотиков, продуцируемых грибами рода Cephalosporium, и их полусинтетических производных. Основным структурным компонентом цефалоспоринов является 7-аминоцефалоспориновая кислота (7-АЦК), которая имеет сходство с 6-аминопенициллановой кислотой (6-АПК), основой пенициллинов.



7-АЦК



6-АПК

Однако различия в химической структуре этих двух групп антибиотиков делают цефалоспорины устойчивыми к пенициллиназам, продуцируемым стафилококками и другими грамположительными бактериями, но могут разрушаться пенициллиназами грамотрицательных бактерий и цефалоспориназами.

К цефалоспоринам относятся антибиотические препараты нескольких поколений, отличающиеся друг от друга по антибактериальному спектру и фармакологическим свойствам. К цефалоспоринам 1-го поколения относятся цефалоридин (цепорин), цефалоксин, цефалотин (кефлин) и др.; 2-го поколения — цефамандол, цефуроксим, цефазолин (кефзол), мандол и др. 3-го поколения — кефлор, цефтазидим (фортум), клафоран, кетоцеф и др.

Антибактериальный спектр цефалоспоринов 1-го поколения в целом достаточно широк. Они характеризуются высокой активностью против грамположительных бактерий и выборочно в отношении грамотрицательных. По действию на стафилококки и эшерихии они превосходят пенициллины. В терапевтических концентрациях преобладает бактерицидное действие препаратов. Однако так же, как и к пенициллинам, к ним устойчивы псевдомонады, протеи, многие энтерококки, бактероиды.

Цефалоспорины 2-го поколения отличаются более высокой устойчивостью к бета-лактамазам грамотрицательных бактерий и более широким антибактериальным спектром, хотя к ним также устойчивы вышеперечисленные микроорганизмы.

Цефалоспорины 3-го поколения относятся к антибиотикам широкого спектра действия с высокой стабильностью к большинству микробных β-лактамаз. Они отличаются от антибиотиков предыдущих поколений значительно большей активностью в отношении синегнойных бактерий, бактероидов и др. Высокоактивны в отношении бактерий, резистентных к пенициллинам и цефалоспоринам 1-го и 2-го поколений, в частности метициллинрезистентных и цефазолинрезистентных штаммов, а также к аминогликозидным антибиотикам, левомицетину, сульфаниламидам. Инфекции, вызванные псевдомонадами, хорошо поддаются лечению цефтазидимом.

Механизм антибактериального действия цефалоспоринов такой же, как и у пенициллинов.

Цефалоспорины блокируют синтез клеточной стенки.

Развитие резистентности бактерий ко многим цефалоспоринам встречается редко и происходит медленно. Отмечается перекрестная устойчивость бактерий к цефалоспоринам 1-го и 2-го поколений.

Новые β-лактамы:

1) Производные оливановой кислоты — карбопенемы (тиенамицины). Характеризуются широким антибактериальным спектром,

включающим грамположительные и грамотрицательные бактерии и анаэробы. Однако они быстро инактивируются ферментами почек.

2) Монобактамы. Они имеют узкий антибактериальный спектр и не действуют на грамотрицательные бактерии и анаэробы.

3) Производные клавуалановой кислоты. Эти препараты являются ингибиторами бета-лактамаз. Они имеют бета-лактамное кольцо, и необратимо связываясь с бета-лактамазами, блокируют их. Применяются в виде комбинированных препаратов с другими антибиотиками, например, с амоксициллином — амоксиклав, с тикарциллином — тиментин, действующими на некоторые грамотрицательные и грамположительные бактерии.

Циклосерин. Антибиотик, образующийся в процессе жизнедеятельности некоторых актиномицетов. Он получен синтетическим путем.

Антибактериальный спектр. Циклосерин оказывает бактериостатическое действие на некоторые грамположительные и грамотрицательные бактерии. Важной особенностью данного антибиотика является его способность задерживать размножение микобактерий туберкулеза, хотя она выражена слабее, чем у стрептомицина, фтивазида и тубазида. Циклосерин действует на устойчивые к перечисленным препаратам микобактерии туберкулеза. Его относят к антибиотикам «резерва».

Механизм антибактериального действия циклосерина объясняется изменениями в синтезе сшивающей тетрапептидной цепи в пептидогликане клеточной стенки за счет включения L-циклосерина вместо D-аланина.

8.2.2.2. Антибиотики, нарушающие функции цитоплазматической мембраны (ЦМ) микроорганизмов

К данной группе относятся полимиксины, полиеновые антибиотики (нистатин, леворин, амфотерицин В).

Полимиксины. Группа родственных антибиотиков, продуцируемых спорообразующими почвенными бактериями Bacillus polymyxa и др. По химическому строению представляют собой сложные соединения, включающие остатки полипептидов. К данной группе относятся полимиксин М, полимиксин В, которые отличаются друг от друга главным образом фармакологическими свойствами.

Антибактериальный спектр этих антибиотиков включает преимущественно грамотрицательные бактерии (кишечная и синегнойная палочки, шигеллы, протей, клебсиеллы). Резистентны к полимиксинам грамположительные бактерии, микоплазмы, грибы. На чувствительные бактерии полимиксины оказывают бактерицидное действие, резистентность к ним развивается медленно.

Полиеновые антибиотики. К данной группе относятся главным образом противогрибковые антибиотики: нистатин, леворин, амфотерицин В, продуцируемые антиномицетами. Близки к ним гризеофульвин, толнафтат, клотримазол, миконазол, кетоконазол и др. К гризеофульвину и толнафтату чувствительны дермотофиты, к трем последним препаратам — большинство грибов, за исключением аспергиллов.

Антимикробный спектр нистатина и леворина включает дрожжеподобные грибы рода Candida и грибы рода Aspergillus. К амфотерицину В чувствительны возбудители глубоких микозов.

Резистентность чувствительных микроорганизмов к данным антибиотикам развивается редко.

Механизм антимикробного действия полиеновых антибиотиков связан с адсорбцией на цитоплазматической мембране грибов и взаимодействием с ее стерольным компонентом. Это приводит к повышению проницаемости мембраны, в результате чего клетка обезвоживается, теряет некоторые микроэлементы (калий) и в конечном итоге погибает.

Таким образом, чувствительность микроорганизмов к нистатину, леворину и другим полиеновым антибиотикам объясняется наличием стеролов в составе их мембраны, а устойчивость бактерий, спирохет, риккетсий и других микроорганизмов — отсутствием данного компонента. Возникновение резистентности к этим антибиотикам у дрожжеподобных грибов наблюдается редко.

8.2.2.3. Антибиотики, ингибирующие синтез белка на рибосомах бактериальных клеток

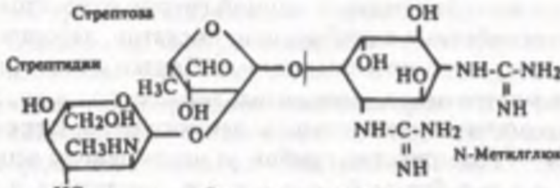
Это самая многочисленная группа антибиотиков, включающая разнообразные по своему химическому составу природные соединения, преимущественно продуцируемые антиномицетами. К ним относятся аминогликозидные антибиотики, группа тетрациклина, левомицетин, макролиды и др.

Аминогликозидные антибиотики

Первый антибиотик этой группы стрептомицин был выделен З.Я. Ваксманом с соавторами еще в 1943 г. вслед за пенициллином. В настоящее время в группу включены стрептомицина сульфат, стрептосульфамицина сульфат, дегидрострептомицина сульфат и др.

Стрептомицин является сложным органическим основанием, молекула которого состоит из трех частей: стрептидина, стрептозы и N-метилглюкозамина.

Антибактериальный спектр стрептомицина и его производных включает большое число видов грамотрицательных бактерий: кишечная палочка, шигеллы, клебсиеллы, бруцеллы, бак-



Стрептомицина сульфат

терии туляремии, чумы, вибрион холеры. К ним чувствительны грамотрицательные кокки, в том числе устойчивые к пенициллину. Основной особенностью стрептомицинов является их способность подавлять размножение микобактерий туберкулеза.

Механизм антибактериального действия стрептомицина заключается в способности блокировать субъединицу рибосомы 30S, а также нарушать считывание генетического кода. При этом кодоны *и*РНК неправильно считываются антикодонами *т*РНК. Например, кодон *УУУ*, кодирующий фенилаланин, считывается как *АУУ*, в результате чего его место занимает изолейцин, что приводит к образованию ненужного для бактериальной клетки полипептида.

Недостатком стрептомицина является быстрое возникновение к нему резистентных бактерий.

К аминогликозидам 1-го поколения наряду со стрептомицином относятся мономицин, неомицин, канамицин; аминогликозиды 2-го поколения — гентамицин, тобрамицин, сизомицин, амикацин (полусинтетическое производное канамицина).

Перечисленные антибиотики отличаются друг от друга по химической структуре и фармакологическим свойствам.

Антибактериальный спектр этих антибиотиков в основном сходен со стрептомициновым. Однако чувствительность к каждому из них варьирует в зависимости от вида и штамма перечисленных бактерий. Например, к мономицину более чувствительны стафилококки, шигеллы, клебсиеллы, малочувствительны стрептококки, чувствительность протеев широко варьирует. Кроме того, мономицин достаточно активен в отношении ряда простейших (лейшмании, токсоплазма, дизентерийная амеба). Канамицин отличается высокой активностью по отношению к микобактериям туберкулеза, в том числе резистентных к стрептомицину и изониазиду. Он также действует на бактерии, устойчивые ко многим антибиотикам, за исключением неомицина, гентамицина (перекрестная устойчивость). Гентамицин более активен, чем другие аминогликозиды, в отношении протеев, тобрамицин — синегнойной палочки. Сизомицин по антибактериальному спектру близок к гентамицину, но отличается от него

более высокой активностью. Амикацин является одним из наиболее активных аминогликозидов.

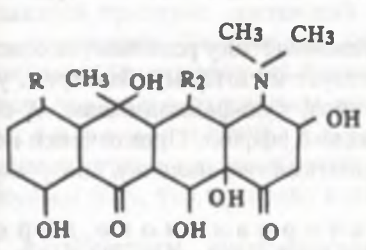
Резистентность бактерий к аминогликозидным антибиотикам в отличие от стрептомицина формируется постепенно. Кроме того, бактерии, резистентные к одному из препаратов группы стрептомицина, приобретают устойчивость и к другим препаратам этой группы, но сохраняют чувствительность к другим аминогликозидным антибиотикам. Вместе с тем бактерии обычно приобретают перекрестную устойчивость к неомицину, мономицину, канамицину или к гентамицину, тобрамицину, сизомицину. Однако многие из них сохраняют при этом чувствительность к амикацину.

Наиболее чувствительными к ферментам инактивирующим аминогликозидные антибиотики, являются стрептомицин, неомицин и канамицин, наименее чувствительными — гентамицин, тобромицин и амикацин.

Группа тетрациклинов

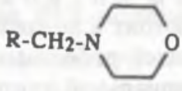
К группе тетрациклинов относятся родственные по химическому строению, антимикробному спектру и механизму действия природные антибиотики и их полусинтетические производные: тетрациклин, тетрациклина гидрохлорид, окситетрациклина гидрохлорид, морфоциклин, метациклина гидрохлорид (синоним рондомицин), доксициклина гидрохлорид (синоним вибромицин) и др.

Тетрациклины являются антибиотиками широкого спектра действия. Они оказывают на чувствительные микроорганизмы бактериостатическое действие. Их антимикробный спектр включает грамположительные и грамотрицательные бактерии, спирохеты, риккетсии, хламидии, микоплазмы. Тетрациклины неэффективны в отношении микобактерий туберкулеза, протея, синегнойной палочки, грибов. Вместе с тем отмечается более высокая активность морфоциклина и рондомицина в отношении микоплазмы пневмонии и вибриомицина в отношении гонококков.



Тетрациклин

R—OH Окситетрациклин



Морфоциклин

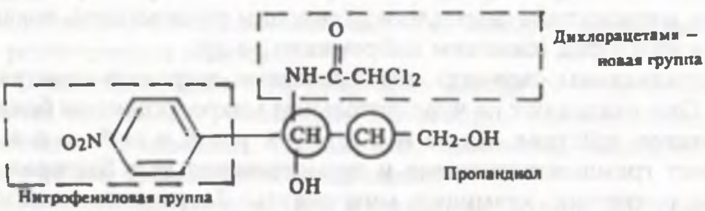
Хотя резистентность чувствительных к тетрациклинам бактерий нарастает постепенно, многие виды приобрели к ним довольно высокую устойчивость. Вместе с тем отмечается перекрестная резистентность бактерий к тетрациклину и его производным.

Механизм антибактериального действия тетрациклинов разнообразен. Ингибирующий эффект обусловлен нарушением связывания аминоацил-*т*РНК с рибосомальноматричным комплексом, что приводит к подавлению синтеза белка на рибосомах бактериальных клеток. Ингибирующее действие тетрациклинов в отношении риккетсий Провацека объясняется подавлением окисления глутаминовой кислоты, которая у этих микроорганизмов является исходным продуктом в реакциях энергетического метаболизма.

Левомицетин (хлорамфеникол)

Левомицетин представляет собой синтетический антибиотик, идентичный природному хлорамфениколу, который образуется некоторыми видами актиномицетов.

Он имеет относительно простой химический состав. В его молекуле содержится два асимметричных атома углерода (обведены кружком). Антибактериальной активностью обладает только левовращающая форма. Отсюда название левомицетин.



Антибактериальный спектр левомицетина включает грамположительные и грамотрицательные бактерии, спирохеты, риккетсии, хламидии. К нему высокочувствительны многие штаммы пиогенных кокков, особенно пневмококки, а также возбудители дифтерии и сибирской язвы.

Резистентность бактерий к левомицетину развивается относительно медленно. Левомицетин действует на штаммы бактерий, устойчивые к пенициллину, стрептомицину, сульфаниламидам. В обычных дозах вызывает бактериостатический эффект. Практически не влияет на микобактерии туберкулеза, синегнойную палочку, анаэробные бактерии и простейшие.

Механизм антибактериального действия левомицетина состоит в подавлении пептидилтрансферазной реакции с 50 S субъединицей рибосомы, в результате чего прекращается синтез белка в бактериальной клетке.

Линкомицин

Антибиотик, продуцируемый некоторыми видами актиномицетов. По химической структуре является 4-алкилзамещенным соединением гиграновой кислоты.

А н т и б а к т е р и а л ь н ы й с п е к т р. Линкомицин обладает бактериостатическим действием. Наиболее чувствительны к нему патогенные кокки, а также бактерии дифтерии, сибирской язвы, некоторые возбудители анаэробной раневой инфекции. На грамотрицательные бактерии не действует. Активен в отношении бактерий, резистентных к пенициллину и другим антибиотикам. Резистентность к линкомицину развивается постепенно.

М е х а н и з м а н т и б а к т е р и а л ь н о г о д е й с т в и я связан с подавлением синтеза белка при взаимодействии с 50 S субъединицей рибосомы.

Макролиды

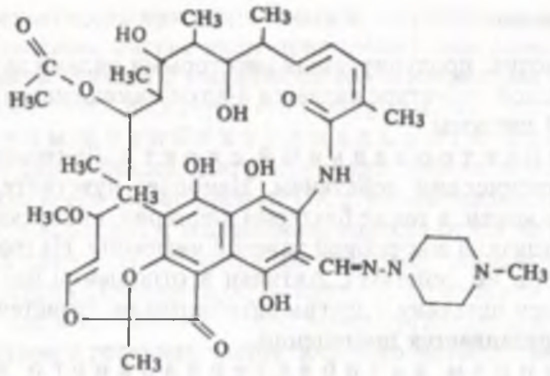
К макролидам относятся эритромицин, его фосфорнокислая соль (эритромицина фосфат) и олеандомицин. Эти антибиотики продуцируются определенными видами актиномицетов и имеют сходное химическое строение, характеризующееся наличием в их молекуле макроциклического лактонного кольца.

А н т и б а к т е р и а л ь н ы й с п е к т р макролидов включает главным образом грамположительные бактерии (группа гноеродных кокков, клостридии), некоторые грамотрицательные бактерии (бруцеллы, гемофильная палочка). Кроме того, эритромицин — один из немногих антибиотиков, который оказался эффективным в отношении кампилобактерий и легионелл. Он также действует на микоплазму пневмонии. Оба антибиотика характеризуются бактериостатическим действием и быстрым образованием резистентных форм бактерий. При комбинированном применении эритромицина со стрептомицином или тетрациклинами наблюдается усиление антибактериального действия. Применяется также комбинированный препарат, состоящий из олеандомицина и тетрациклина, — олеотетрин. Он обладает более широким антибактериальным спектром. Резистентность бактерий к олеотетрину развивается медленнее, чем к его отдельным компонентам.

М е х а н и з м а н т и б а к т е р и а л ь н о г о д е й с т в и я макролидов состоит в их способности взаимодействовать с субъединицей рибосомы 50 S, что приводит к нарушению синтеза белка.

8.2.2.4. Антибиотики, ингибирующие РНК-полимеразу

К данной группе относятся рифамицины — родственные антибиотики, продуцируемые разными видами актиномицетов.



В результате химической модификации одного из них был получен полусинтетический аналог рифамицина, получивший название рифампицин, с более ценными антибиотическими свойствами.

Рифампицин обладает широким антибактериальным спектром, оказывает бактерицидное действие на грамположительные и грамотрицательные бактерии, неспорообразующие анаэробы (бактероиды и др.), клостридии, иерсинии, гемофильную палочку, лептоспиры. Кроме того, рифампицин активен в отношении микобактерий туберкулеза. Устойчивыми к нему являются спирохеты, микоплазмы, грибы, простейшие. Рифампицин применяется главным образом для лечения туберкулеза легких и других органов, особенно если он вызван бактериями, резистентными к другим противотуберкулезным химиотерапевтическим веществам. Рифампицин применяют обычно в сочетании с другими противотуберкулезными препаратами, поскольку резистентность бактерий к данному антибиотику развивается быстро.

Механизм антибактериального действия рифампицина заключается в его способности подавлять активность ДНК-зависимой РНК-полимеразы и тем самым блокировать синтез белка на уровне транскрипции.

8.2.2.5. Антибиотики, ингибирующие репликацию и транскрипцию (противоопухолевые препараты)

Данные препараты для лечения инфекционных заболеваний не применяются из-за своей токсичности. К противоопухолевым антибиотикам относятся следующие препараты:

Актиномицины нарушают движение ДНК-полимеразы, препятствуя тем самым репликации ДНК.

Митомицины образуют ковалентные связи между основаниями комплементарных цепей ДНК, блокируя тем самым репликацию и транскрипцию

Блеомицины образуют ковалентные комплексы с ДНК, которые являются мишенью действия клеточных ферментов, образующих разрывы в молекуле ДНК, которые приводят к фрагментации генома и гибели клетки.

8.3. ЛЕКАРСТВЕННАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ БАКТЕРИЙ И ПУТИ ЕЕ ПРЕОДОЛЕНИЯ

Еще в начале развития химиотерапии при изучении действия трипанового синего на трипаносомы П. Эрлих заметил появление резистентных форм микроорганизмов к данному красителю. По мере расширения арсенала химиопрепаратов увеличивалось число сообщений о таких наблюдениях. Так, после начала широкого применения сульфаниламидных препаратов было отмечено появление многочисленных штаммов бактерий, которые легко выдерживали терапевтические концентрации данных препаратов.

Антибиотикорезистентные бактерии возникли и стали распространяться сразу после внедрения антибиотиков в клиническую практику. Как тревожный сигнал прозвучали сообщения о появлении и распространении пенициллинрезистентных стафилококков. В настоящее время повсеместно возрастает число лекарственно-устойчивых форм бактерий. Так, частота обнаружения пенициллинустойчивых стафилококков доходит до 90–98%, стрептомицинустойчивых — 60–70% и выше, резистентность шигелл к ампициллину достигает 90% и более, к тетрациклину и стрептомицину — 54% и т.д. Устойчивость к антибиотикам чаще возникает у бактерий, реже у спирохет, риккетсий, хламидий, микоплазм, дрожжеподобных грибов.

Механизмы резистентности микроорганизмов к антибиотикам и другим химиотерапевтическим препаратам сложны и разнообразны. Главным образом они связаны со следующими причинами:

1) превращением активной формы антибиотика в неактивную форму путем ферментативной инактивации и модификации;

2) утратой проницаемости клеточной стенки для определенного химиотерапевтического препарата;

3) нарушениями в системе специфического транспорта данного препарата в бактериальную клетку;

4) возникновением у микроорганизмов альтернативного пути образования жизненно важного метаболита, заменяющего основной путь, блокированный препаратом.

Механизмы резистентности могут быть подразделены на первичные и приобретенные (схема 8.1).

Схема 8.1. Генетические и биохимические механизмы резистентности бактерий к антибиотикам

К первичным механизмам относятся те, которые связаны с отсутствием «мишени» для действия данного препарата; к приобретенным — изменением «мишени» в результате модификаций, мутаций, рекомбинаций. В первом случае речь идет о естественной (видовой) резистентности, например у микоплазм к пенициллину из-за отсутствия у них клеточной стенки. Однако чаще всего резистентность к химиотерапевтическим препаратам, в том числе антибиотикам, приобретается микробными клетками с генами резистентности (r-гены), которые они получают в процессе свой жизнедеятельности от других клеток данной или соседней популяции. При этом наиболее эффективно и с высокой частотой r-гены передаются плазмидами и транспозонами (см. 6.2). Один транспозон передает резистентность только к одному препарату. Плазмиды могут нести несколько транспозонов, контролирующих резистентность к разным химиотерапевтическим препаратам, в результате чего формируется множественная резистентность бактерий к различным препаратам.

Устойчивость к антибиотикам бактерий, грибов и простейших также возникает в результате мутаций в хромосомных генах, контролирующих образование структурных и химических компонентов клетки, являющихся «мишенью» для действия препарата. Так, например, резистентность дрожжеподобных грибов рода Candida к нистатину и леворину может быть связана с мутационными изменениями цитоплазматической мембраны.

Биохимические механизмы резистентности бактерий к бета-лактамным антибиотикам разнообразны. Они могут быть связаны с ин-

индуцибельным синтезом бета-лактамазы, изменениями в пенициллинсвязывающих белках и других «мишенях». Описано около 10 пенициллинсвязывающих белков — ферментов, участвующих в синтезе бактериальной клеточной стенки. Кроме того, резистентность к ампициллину и карбенициллину можно объяснить снижением проницаемости наружной мембраны грамотрицательных бактерий. Развитие того или другого типа резистентности определяется химической структурой антибиотика и свойствами бактерий. У одного и того же вида бактерий могут существовать несколько механизмов резистентности.

Механизм быстрого развития резистентности к новым цефалоспоринам, устойчивым к действию цефалоспориназ, зависит от образования комплекса антибиотика с индуцибельными латамазами. При этом гидролиза антибиотика не происходит. Такой механизм обнаружен у протеев.

Биохимические механизмы приобретенной резистентности к аминогликозидным антибиотикам и левомицетину связаны со способностью бактерий образовывать ферменты (ацетилтрансферазу, аденилтрансферазу, фосфотрансферазу), которые вызывают соответственно ацетилирование, аденилирование или фосфорилирование данных антибиотиков. Устойчивость к тетрациклину обусловлена главным образом специфическим подавлением транспорта данного антибиотика в бактериальные клетки и т.д.

Таким образом, происходит образование отдельных резистентных особей в бактериальной популяции. Их количество крайне незначительно. Так, одна мутировавшая клетка (спонтанная мутация), устойчивая к какому-либо химиотерапевтическому препарату, приходится на 10^5–10^9 интактных (чувствительных) клеток. Передача r-генов с плазмидами и транспозонами повышает число резистентных особей в популяции на несколько порядков. Однако общее число лекарственно-резистентных бактерий в популяции остается весьма низким.

Формирование лекарственно-устойчивых бактериальных популяций происходит путем селекции. При этом в качестве селективного фактора выступает только соответствующий химиотерапевтический препарат, селективное действие которого состоит в подавлении размножения огромного большинства чувствительных к нему бактерий.

Массовой селекции и распространению антибиотикорезистентных бактериальных популяций способствуют многие факторы, например бесконтрольное и нерациональное применение антибиотиков для лечения и особенно для профилактики различных инфекционных заболеваний без достаточных к тому оснований, а также использование пищевых продуктов (мясо домашних птиц и др.), содержащих антибиотики (тетрациклин).

Борьба с лекарственно-устойчивыми бактериями проводится разными путями. К ним относятся систематическое получение новых

химиотерапевтических препаратов, которые отличаются от существующих механизмом антибактериального действия. Перспективным направлением является химическая модификация известных антибиотиков с защищенными активными группами, устойчивыми к бактериальным ферментам. Кроме того, проводятся исследования по изысканию ингибиторов, подавляющих активность бактериальных ферментов, а также препаратов, препятствующих адгезии (*см. 10.1.1*) бактерий на клетках макроорганизмов.

Особое значение приобретают мероприятия, рекомендованные ВОЗ для ограничения распространения лекарственно-устойчивых форм бактерий. Это прежде всего систематическое изучение типов лекарственной устойчивости патогенных и условно-патогенных бактерий, циркулирующих в пределах отдельных регионов.

Своевременная информация лечащих врачей о циркулирующих в данном регионе лекарственно-устойчивых бактериях помогает в выборе наиболее подходящего по спектру действия препарата без предварительного определения чувствительности выделенных бактерий. Это позволяет избежать «слепого» использования большого числа антибиотических средств.

Рекомендуется также по мере возможности определять чувствительность выделенных бактерий к антибиотикам, а также ограничивать их применение без достаточных показаний. Запрещается использовать применяемые в медицине антибиотики в качестве консервантов пищевых продуктов и кормовых добавок, для ускорения роста, профилактики и лечения различных заболеваний животных (сальмонеллезов и др.). В животноводстве рекомендуется применять такие антибиотики, которые не используются в медицинской практике. Большое значение имеет проведение эпидемиологического надзора за заражением окружающей среды лекарственно-устойчивыми бактериями, которые передаются с пищевыми продуктами, сточными водами, больничными отходами. С этой целью необходимо систематически выявлять носительство антибиотико-устойчивых бактерий и проводить другие профилактические мероприятия.

8.4. ХИМИОТЕРАПИЯ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Широко распространенные в настоящее время химиотерапевтические препараты, в том числе антибиотики, оказались неэффективными (за редким исключением) при использовании их при лечении вирусных инфекций. Это прежде всего связано с отсутствием у вирусов собственных метаболических путей, ведущих к получению энергии и синтезу строительного материала. Поэтому нет ничего удивительного в том, что химиопрепараты, блокирующие опреде-

ленные жизненно важные для того или другого микроорганизма метаболические реакции, точнее ферменты, катализирующие эти реакции, не оказывают ингибирующего действия на внеклеточные вирионы. В то же время различные вещества, являющиеся ингибиторами репликации ДНК или процессов транскрипции и трансляции информации на рибосомы, могут оказывать ингибирующее действие при репродукции вирусных частиц в клетке хозяина. Вследствие того что многие из этих веществ подавляют жизнедеятельность самой клетки, их нельзя использовать в качестве химиотерапевтических средств. Как было указано, некоторые внрионы содержат в своем составе вирусоспецифические ферменты или несут информацию, необходимую для синтеза ферментов в клетке хозяина, катализирующих реакции биосинтеза вирусспецифических продуктов (ферментов и строительных белков).

Изыскание ингибиторов данных реакций ограничено тем, что вирусспецифические ферменты имеют большое структурное и функциональное сходство с подобными ферментами (ДНК-полимераза, ДНК-зависимая РНК-полимераза и др.) клетки хозяина — они почти в одинаковой степени подавляются соответствующими ингибиторами. Однако, несмотря на упомянутые проблемы, в настоящее время получен ряд препаратов, которые по механизму противовирусного действия можно разделить на несколько групп.

1. ***Вирулоцидные препараты***, действующие на внеклеточные вирионы. К ним относятся *оксолин*, действующий на риновирусы, герпесвирусы и миксовирусы, и *тетрофеин*, действующий на аденовирусы и герпесвирусы. Однако их применение ограничено, поскольку эти препараты токсичны.

2. ***Препараты, блокирующие адсорбцию вируса на рецепторах клетки хозяина.*** На этой стадии используют так называемые «фальшивые рецепторы», представляющие собой структурные аналоги вирусных рецепторов, которые, адсорбируясь на рецепторах (лигандах) клеток, препятствуют тем самым адсорбции вируса. Пока известен только один такой аналог рецептору CD4, на котором адсорбируется ВИЧ.

3. ***Препараты, нарушающие процесс «раздевания» вирусов.*** К ним относится р е м а н т а д и н, активный против вируса гриппа А.

4. ***Препараты, ингибирующие стадию сборки вирионов.*** Производные тиосемикарбазона. Лучший из них м е т и с а з о н (м а р б о р а н) является ингибитором вируса оспы.

5. ***Препараты — ингибиторы репликации*** — аналоги азотистых оснований, которые, встраиваясь в молекулу ДНК или РНК, блокируют работу полимераз. К ним относятся в и д а р а б и н, который действует на ДНК-зависимую ДНК-полимеразу вируса герпеса. Пре-

парат токсичен, используется только при тяжелых формах заболеваний. А ц и к л а в и р имеет тот же механизм действия. Наиболее широко используется при инфекциях, вызванных вирусом герпеса Эпштейна–Барр и герпесвирусами 6 и 7 типов.

А з и д о т и м и д и н — аналог тимина, действует на обратную транскриптазу ретровирусов, в частности ВИЧ. Д и д е з о к с и ц и т а д и н — аналог азидотимидина. Оба препарата токсичны.

К ингибиторам репликации относятся также аналоги фосфоновой кислоты, которые, необратимо связываясь с пирофосфатом, блокируют функцию ДНК-полимеразы.

Большой интерес вызывают соединения, связанные с комплементарными олигонуклеотидами, которые способны повреждать вирусные гены. Кроме того, заслуживает внимания изыскание ингибиторов протеолитической активации ряда вирусов, белки которых приобретают функциональную активность только после их протеолитического нарезания. К таким вирусам относятся пикорна-, тога-, ретровирусы. У орто- и пикорнавирусов, аденовирусов протеолитическому нарезанию подвергаются гликопротеины.

Вопросы для самоконтроля

1. В чем состоят различия между химиотерапевтическими препаратами, антисептиками и дезинфектантами?
2. Каковы механизмы антимикробного действия химиотерапевтических препаратов и антибиотиков?
3. По каким признакам можно классифицировать химиотерапевтические препараты и антибиотики?
4. Дайте характеристику основным группам антибиотиков.
5. Перечислите чувствительных микроорганизмов к важнейшим группам антибиотиков.
6. В чем состоят проблемы противовирусной химиотерапии?
7. Каковы генетические и биохимические механизмы лекарственной резистентности бактерий?
8. Перечислите основные противовирусные препараты и укажите механизм их ингибирующего действия.
9. Какие антибиотики блокируют синтез клеточной стенки у бактерий?
10. Какие антибиотики нарушают функции цитоплазматической мембраны у дрожжеподобных грибов и каковы механизмы их действия?
11. Какие антибиотики блокируют синтез белка на рибосомах бактерий?
12. Какие антибиотики нарушают репликацию нуклеиновых кислот?
13. Какие химиотерапевтические препараты обладают противовирусным действием?
14. Каков механизм противовирусного действия ациклавира?
15. Какие бактериальные ферменты инактивируют аминогликозидные антибиотики и левомицетин?
16. Каков механизм действия ферментов, инактивирующих тетрациклины?

Часть вторая

ИНФЕКТОЛОГИЯ (УЧЕНИЕ ОБ ИНФЕКЦИИ)

ГЛАВА 9 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИНФЕКЦИИ

9.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ, УСЛОВИЯ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ИНФЕКЦИИ И ПУТИ ПЕРЕДАЧИ ВОЗБУДИТЕЛЯ

Инфекция (лат. *infectio* — заражение), или *инфекционный процесс*, представляет собой совокупность физиологических и патологических адаптационных и репарационных реакций, которые возникают и развиваются в макроорганизме в процессе взаимодействия с патогенными микроорганизмами, вызывающими нарушения его внутренней среды и физиологических функций. Аналогичные процессы, вызванные простейшими, называют инвазиями. Инфекцию нельзя отождествлять только с микробом — возбудителем болезни, поскольку он является одним из факторов, обусловливающих развитие патологического процесса, но не определяет это состояние в целом.

Сложные процессы взаимодействия между патогенными микроорганизмами и продуктами их жизнедеятельности — токсинами, ферментами — с одной стороны, клетками, тканями и органами организма хозяина — с другой, весьма разнообразны по своим проявлениям. Последние определяются свойствами возбудителя, состоянием макроорганизма и условиями окружающей среды, в том числе социальными факторами.

Существенное значение для возникновения инфекционного заболевания имеет инфицирующая доза возбудителя — минимальное количество микробных клеток, способных вызвать инфекционный процесс. При этом инфицирующие дозы зависят от видовой принадлежности возбудителя, его вирулентности и состояния неспецифической и иммунной защиты. Так, например, заболевание холерой наступает при заражении человека значительно большими дозами возбудителя, чем это требуется для возникновения брюшного тифа и дизентерии.

Ткани, лишенные физиологической защиты против конкретного вида микроорганизма, служат местом его проникновения в макроорганизм, или входными воротами инфекции. Например, слизистая оболочка трахеи, бронхов — для стафилококков, пневмококков, микоплазмы пневмонии, вирусов гриппа и кори; слизистая оболочка кишечного тракта — для шигелл, сальмонелл, холерного вибриона; цилиндрический эпителий мочеполового тракта — для гонококков, стрептококков, уретральных микоплазм и хламидий. Ряд возбудителей проникает в организм несколькими путями. К ним относятся стафилококки, стрептококки, протеи, бактерии чумы и многие другие микроорганизмы.

Входные ворота инфекции часто определяют локализацию возбудителя в организме, а также патогенетические и клинические особенности инфекционного заболевания. Например, стафилококки и стрептококки при проникновении через кожу в кровь могут вызвать сепсис, на слизистую оболочку респираторных путей — бронхиты, пневмонии, на слизистую оболочку уретры — гнойные уретриты; кишечная палочка при проникновении через кожу — нагноительные процессы, на слизистую оболочку тонкой или толстой кишки — кишечные инфекции и т.д.

9.2. ФОРМЫ ИНФЕКЦИИ И ИХ ХАРАКТЕРИСТИКА

Формы инфекции, или инфекционного процесса, чрезвычайно разнообразны и носят различные наименования в зависимости от природы возбудителя, его локализации в макроорганизме, путей распространения и других условий (табл. 9.1).

Экзогенная инфекция возникает в результате заражения человека патогенными микроорганизмами, поступающими из окружающей среды с пищей, водой, воздухом, почвой, выделениями больного человека, реконвалесцента и микробоносителя.

Эндогенная инфекция вызывается представителями нормальной микрофлоры — условно-патогенными микроорганизма

Таблица 9.1

Формы инфекций

Признак	Наименование форм инфекций
Природа возбудителя	Бактериальная, вирусная, грибковая, протозойная
Происхождение	Экзогенная, эндогенная, аутоинфекция
Локализация возбудителя в организме хозяина	Местная (очаговая), общая (генерализованная): бактериемия, вирусемия, септицемия, сепсис, септикопиемия, токсико-септический шок
Число видов возбудителей	Моноинфекция, смешанная инфекция
Повторные проявления заболевания, вызванного теми же или другими возбудителями	Вторичная инфекция, реинфекция, суперинфекция, рецидив
Продолжительность взаимодействия возбудителя с макроорганизмом	Острая, хроническая, микробоносительство
Проявление	Манифестная, бессимптомная
Источники инфекции:	
человек	Антропонозы
животное	Зоонозы
внешняя среда	Сапронозы

ми самого индивидуума. Она часто возникает при иммунодефицитных состояниях организма.

А у т о и н ф е к ц и я — разновидность эндогенной инфекции, которая возникает в результате самозаражения путем переноса возбудителя (обычно руками самого больного) из одного биотопа в другой. Например, из полости рта или носа на раневую поверхность.

В зависимости от локализации возбудителя различают о ч а г о в у ю и н ф е к ц и ю, при которой микроорганизмы локализуются в местном очаге и не распространяются по организму. Например, при фурункулезе стафилококки находятся в волосяных фолликулах, при ангине стрептококки обнаруживаются в миндалинах, при конъюнктивитах возбудитель локализуется на конъюнктиве глаза и т.д.

Однако очаговая инфекция при малейшем нарушении равновесия между макро- и микроорганизмами может перейти в г е н е р а л и-

зованную форму, при которой возбудитель распространяется по организму лимфогенным или гематогенным путем. В последнем случае развивается бактериемия или вирусемия. Кровь в таких случаях является механическим переносчиком возбудителя, поскольку последний в ней не размножается.

Наиболее тяжелой генерализованной формой инфекции является сепсис (*см. 24.2.1*). Это состояние характеризуется размножением возбудителя в крови при резком угнетении основных механизмов иммунитета.

При сепсисе или септицемии главным местом размножения микроорганизмов является кровь. Близким к сепсису является циклическое размножение в крови некоторых простейших (малярийный плазмодий, трипаносомы) при соответствующих протозойных инвазиях. При возникновении гнойных очагов во внутренних органах начинается септикопиемия, а при массовом поступлении в кровь бактерий и их токсинов развивается бактериальный или токсико-септический шок (*см. 24.2.2*).

Моноинфекция вызывается одним видом микроорганизмов, в то время как смешанная инфекция — двумя или несколькими видами. Наиболее тяжело протекают смешанные инфекции. Они могут быть вызваны разными бактериями: стафилококком, протеем, синегнойной палочкой, как это часто наблюдается при внутрибольничной хирургической инфекции.

К смешанным (микст) инфекциям относятся многие респираторные заболевания, вызванные бактериями, вирусами, микоплазмами в разнообразных сочетаниях (*см. 24.4*).

От смешанных инфекций следует отличать вторичную инфекцию, при которой к первоначальной, основной, уже развившейся болезни присоединяется другая, вызываемая новым возбудителем. Например, при заболевании брюшным тифом может возникнуть пневмония, вызванная другими бактериями или вирусами.

Реинфекцией называют заболевание, возникающее после перенесенной инфекции в случае повторного заражения тем же возбудителем, например реинфекции при дизентерии, гонорее, при других болезнях, перенесение которых не завершается образованием напряженного иммунитета.

В тех случаях, когда инфицирование макроорганизма тем же возбудителем происходит до выздоровления, возникает суперинфекция.

Рецидивом называют возврат клинических проявлений болезни без повторного заражения за счет оставшихся в организме возбудителей, например рецидивы при рожистом воспалении, остеомиелите, возвратном тифе.

По продолжительности взаимодействия возбудителя с макроорганизмом, а также по клиническим и патогенетическим признакам различают острые и хронические инфекции. Острые инфекции протекают в сравнительно короткие сроки. Они характеризуются определенными для данного заболевания патогенезом и клиническими симптомами. В ряде случаев острые инфекции переходят в хронические, продолжительность которых колеблется от нескольких месяцев до многих лет. Хронические инфекции характеризуются длительным пребыванием микроорганизмов в организме, или персистенцией.

При острых инфекциях возбудитель вскоре после выздоровления обычно исчезает из организма. При хронической инфекции он находится в организме в течение более длительных сроков и может выделяться в окружающую среду.

Состояние, при котором выделение возбудителя продолжается после клинического выздоровления больного, называют микробоносительством (бактерионосительство, вирусоносительство). Чаще всего эти состояния формируются при слабой напряженности постинфекционного иммунитета, например, после перенесения кишечных инфекций (брюшной тиф, дизентерия и др.). Микробоносительство может развиваться также у здоровых лиц, контактировавших с больными или носителями соответствующих патогенных микроорганизмов. Клинически микробоносительство не проявляется. В тех случаях, когда инфекция протекает без выраженных симптомов, ее называют бессимптомной, а при наличии характерного симптомокомплекса — манифестной. Бессимптомная инфекция заканчивается выздоровлением при элиминации возбудителя либо переходом в манифестную острую, либо хроническую инфекцию.

9.3. ПЕРИОДЫ ИНФЕКЦИОННОЙ БОЛЕЗНИ

Каждая манифестная инфекция характеризуется определенным симптомокомплексом и циклическим течением болезни, т.е. последовательной сменой отдельных ее периодов, отличающихся продолжительностью, клиническими симптомами, микробиологическими, иммунологическими и эпидемиологическими особенностями (табл. 9.2). Инкубационный период начинается от момента проникновения инфекционного агента в организм человека до появления первых предвестников заболевания. Продолжительность инкубационного периода при большинстве бактериальных инфекций колеблется от нескольких часов до нескольких недель, в зависимости от нозологической формы.

Таблица 9

Микробиологическая и иммунологическая характеристика периодов инфекционных болезней

Период инфекционного заболевания	Поведение возбудителя	Выделение возбудителя в окружающую среду	Иммунный ответ
Инкубационный	Адгезия на чувствительных клетках миндалин, дыхательных путей, желудочно-кишечного, мочеполового трактов	Как привило, не выделяется	Антитела не обнаруживаются
Продромальный	Колонизация чувствительных клеток. Проявление первых неспецифических симптомов заболевания	То же	То же
Разгар болезни	Интенсивное размножение. Проявление специфических симптомов заболевания	Выделяется	Появление антител класса IgM в небольших титрах. В конце периода происходит замена антител класса IgM антителами классов IgG и IgA.
Реконвалесценция (выздоровление)	Прекращение размножения и гибель возбудителя. Нормализация функций больного	Выделение возбудителя, прекращающееся после выздоровления больного или переходящее в микробоносительство	Нарастание титра антител классов IgG, IgA. При ряде заболеваний формируется реакция гиперчувствительности замедленного типа

Больной в этот период не представляет опасности для окружающих, поскольку возбудитель обычно не выделяется из организма человека в окружающую среду.

Инкубационный период сменяется продромальным периодом (продрома), который продолжается от нескольких часов до нескольких дней. В данный период возбудитель интенсивно размножается и колонизирует ткань в месте его локализации, а также начинает продуцировать соответствующие ферменты и токсины. При многих инфекционных заболеваниях возбудители в период продромы не выделяются во внешнюю среду. Исключения составляют корь, коклюш и некоторые другие.

Разгар болезни характеризуется появлением специфических симптомов. В начале данного периода обнаруживаются специфические антитела в сыворотке крови больного, титр которых в дальнейшем увеличивается. Возбудитель продолжает интенсивно размножаться в организме, накапливаются значительные количества токсинов и ферментов, поступающих в кровь. Вместе с тем происходит выделение возбудителя из организма больного, вследствие чего он представляет опасность для окружающих.

Разгар заболевания переходит в **период реконвалесценции** (выздоровления), во время которого постепенно восстанавливаются физиологические функции пораженных клеток, тканей, органов и всего организма в целом. Продолжительность данного периода зависит от состояния организма хозяина, реабилитационных мероприятий и т.д. Титр антител достигает максимума.

При многих заболеваниях в период реконвалесценции возбудитель выделяется из организма человека в большом количестве. Пути выделения зависят от локализации инфекционного процесса. Например, при респираторной инфекции — из носоглотки и полости рта с капельками слюны и слизи; при кишечной инфекции — с испражнениями и мочой; при гнойно-воспалительных заболеваниях — с гноем и отделяемым пораженных участков тканей и т.д. В определенных условиях реконвалесценция переходит в микробоносительство, продолжительность которого может измеряться многими месяцами. При локализации возбудителя в крови, например при возвратном тифе, риккетсиозах, арбовирусных и других инфекциях, он не выделяется из организма.

В ряде случаев инфекционная болезнь заканчивается летально. Трупы инфекционных больных подлежат дезинфекции, поскольку содержат инфекционные агенты, которые представляют опасность при попадании во внешнюю среду.

ГЛАВА 10

ВОЗБУДИТЕЛИ ИНФЕКЦИЙ И ИХ СВОЙСТВА

Возбудителями инфекций, или инфекционные процессов, являются патогенные, или болезнетворные, микроорганизмы, обладающие способностью прикрепляться (адгезироваться) к клеткам определенных органов, размножаться и колонизировать поражаемые участки, что в конечном итоге может привести к инфекционной болезни.

10.1. ПАТОГЕННОСТЬ, ВИРУЛЕНТНОСТЬ И ТОКСИЧНОСТЬ

Патогенность является полидетерминантным генотипическим признаком, контролируемым кластером генов, ответственных за образование ряда структур бактериальной клетки (капсула, клеточная стенка), ферментов, нарушающих целостность тканей, и токсинов.

Патогенность характеризуется специфичностью, т.е. способностью вызывать типичные для данного вида возбудителя патоморфологические и патофизиологические изменения в определенных тканях и органах при естественных для него способах заражения. Это проявляется в соответствующем патогенетическом и клиническом типе инфекций: гнойной, респираторной, кишечной и др. (*см. 24.3, 24.4*).

Наряду с патогенными существуют так называемые условно-патогенные микроорганизмы. Они чаще всего являются естественными обитателями разных биотопов организма человека и вызывают заболевания только при резком снижении общего и местного иммунитета (*см. главу 12*).

Вирулентность — количественная мера или степень патогенности, измеряемая в специальных единицах DLM и LD_{50}. 1 DLM (лат. *Dosis letalis minima*), — минимальная смертельная доза, равная наименьшему количеству микробных клеток, которое при определенном способе заражения вызывает гибель 95% восприимчивых животных определенного вида, веса и возраста в течение заданного времени. LD_{50}, вызывающая гибель 50% зараженных животных, является более точной дозой.

Таким образом, вирулентность выявляется фенотипическим признаком, реализующимся в организме хозяина. Вирулентность следует рассматривать как комплекс разных признаков (*см. ниже*). Наряду с вирулентностью патогенность связана с токсигенностью — способностью бактерий образовывать и во многих случаях секретировать токсины. Отсюда первых назвали эндотоксинами, а вторых — экзотоксинами. Вирулентные и токсические свойства возбудителя тесно связаны между собой. Одни и те же виды микроорганизмов могут последовательно проявлять как свою вирулентность, так и токсичность. Особенно это касается многих грамотрицательных бактерий, образующих эндотоксин.

10.1.1. Факторы вирулентности бактерий и их характеристика

К признакам или факторам вирулентности бактерий относится комплекс признаков, с помощью которых бактерии реализуют свой патогенный генотип в организме хозяина. К данному комплексу относятся следующие признаки.

Адгезия и колонизация. Первые стадии инфекционного процесса, связанные с адгезией микробных клеток на чувствительных клетках и последующей их колонизацией, являются конкретными проявления вирулентных свойств любого возбудителя.

Феномен адгезии состоит из нескольких этапов, в результате которых микробные клетки прикрепляются или прилипают к поверхности эпителия. С одной стороны, в этом процессе задействованы неспецифические физико-химические механизмы, обеспечивающие контакт между клетками возбудителя и организма хозяина и связанные с гидрофобностью микробных клеток, суммой энергий отталкивания и притяжения. С другой стороны, способность к адгезии определяется специфическими химическими группировками определенного строения — *лигандами*, находящимися на поверхности микроорганизмов, и рецепторами клеток, которые должны соответствовать друг другу. В противном случае адгезия не происходит.

Адгезины, отвечающие за прилипание возбудителя к клеткам микроорганизма, очень разнообразны. Их уникальное строение, свойственное определенным видам и даже штаммам, обусловливает высокую специфичность данного процесса. Этим объясняется способность одних микроорганизмов прикрепляться и колонизировать преимущественно эпителий дыхательных путей, других — кишечного тракта, третьих — мочевыделительной системы и т.д. (рис. 10.1).

Адгезины многих грамотрицательных бактерий связаны с пилями разных типов. Их обозначают номерами, символами пилей или колонизирующих факторов, которые они содержат. Например, пили

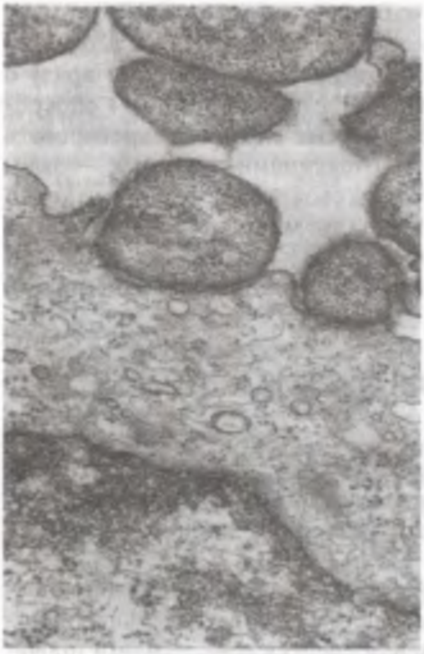


Рис. 10.1. Адгезия гонококка на эпителиальной клетке. Электронная микроскопия. Ультратонкий срез. Ув. 40 000

1-го типа обнаружены у многих бактерий, пили 4-го типа — у протея, Р-пили — у нефритогенных штаммов кишечной палочки, CFA/I, CFA/II, CFA/III (англ. *colonization factor of antigenes* — колонизирующий антигенный фактор) — у ряда энтеробактерий. Последние обозначения указывают на то, что адгезия бактерий на эпителиальных клетках и их колонизация могут быть связаны с их антигенами.

Адгезивную функцию грамотрицательных бактерий выполняют капсула и капсулоподобная оболочка, белки наружной мембраны клеточной стенки.

У грамположительных бактерий эта функция связана с тейхоевыми и липотейхоевыми кислотами клеточной стенки, капсулой и капсулоподобной оболочкой. Образуемые из экзополисахаридов гликаны и леваны (*см. 3.1.2*) обеспечивают способность оральных стрептококков прилипать к гладким поверхностям, например, зубной эмали и к эндопротезам.

Рецепторы клеток тканей человека также неоднородны по своему составу. Их подразделяют на нативные, индуцированные и приобретенные. Нативные рецепторы располагаются на эпителиальных клетках, участвуя в адгезии соответствующих бактерий.

Индуцированные рецепторы образуются только после адсорбции вирусов (например, вируса гриппа) на чувствительных клетках, после чего на них могут адгезироваться стафилококки и другие бактерии. Это объясняется тем, что рецептором для этих бактерий служит вирусный гемагглютинин, который встраивается в цитоплазматическую мембрану эпителиальных клеток. Данное положение приобретает важное значение для понимания механизмов возникновения вторичных бактериальных инфекций при первичных вирусных заболеваниях, например гриппе.

Приобретенные рецепторы появляются при определенных условиях. Они представляют собой «мостики», связывающие эпителиальные и бактериальные клетки, которые состоят из иммуноглобулинов разных классов, альбуминов, фибронектина или других соединений, способных взаимодействовать с комплементарными бактериальными адгезинами.

Колонизация представляет собой процесс размножения микробов в месте адгезии. Эта стадия обеспечивает накопление микроорганизмов до такой критической концентрации, которая способна вызвать патологическое действие.

Пенетрация. Вирулентные свойства возбудителей могут проявляться в способности некоторых из них пенетрировать (проникать) внутрь эпителиальных клеток, лейкоцитов или лимфоцитов. В эпителиальные клетки проникают и размножаются шигеллы, некоторые эшерихии и др. Пенетрация начинается после попадания бактерий в межклеточное пространство, где они взаимодействуют с мембранными белками клетки. Связывание с этими белками приводит к изменению конформации микротрубочек и впячиванию мембраны, в результате чего бактерии оказываются внутри клетки.

Способность бактерий размножаться внутри клеток связана с их устойчивостью к лизосомальным ферментам и защитным белкам, недостаточному содержанию кислорода. Внутриклеточно размножающиеся бактерии способны проникать в соседние клетки без выхода в окружающую среду. При этом клетки разрушаются, что сопровождается нарушением целостности эпителиального покрова соответствующего органа или полости и возникновением патологического процесса.

Инвазия. Вирулентность патогенных микроорганизмов может проявиться в инвазии, т.е. проникновении через слизистые и соединительнотканные барьеры в подлежащие ткани. Эту способность связывают с продукцией таких ферментов, как гиалуронидаза и нейраминидаза. Гиалуронидазу образуют Clostridium perfringens, некоторые бактерии родов Streptococcus, Staphylococcus и др. Данный фермент специфически расщепляет гиалуроновую кислоту, входящую в состав межклеточного вещества, тем самым повышая проницаемость слизистых оболочек и соединительной ткани.

Нейраминидаза продуцируется холерным вибрионом и другими бактериями. С помощью нейраминидазы возбудители могут преодолевать не только слизистую оболочку, но проникать внутрь клеток и распространяться в межклеточном пространстве.

Агрессия. Факторы вирулентности, интерферирующие с защитными силами организма, иногда называют агрессинами, поскольку они обладают способностью подавлять неспецифическую и иммунную защиту организма хозяина. К ним относятся вещества разной приро-

ды, входящие в состав поверхностных структур бактериальной клетки: капсулы (полисахариды, протеины), клеточной стенки (протеин А стафилококка, протеин М стрептококка, липополисахариды грамотрицательных бактерий). Многие из них подавляют миграцию лейкоцитов, препятствуя фагоцитозу.

Защитные функции организма подавляются также ферментами, продуцируемыми возбудителем. К ним относятся протеазы, разрушающие антитела, коагулаза, свертывающая плазму крови, фибринолизин, превращающий плазминоген крови в фермент и растворяющий сгустки фибрина, лецитиназа, действующая на лецитин. Перечисленные ферменты отличаются от белковых экзотоксинов по своей природе и механизму действия.

Ферменты микроорганизмов по их патогенетическому действию можно подразделять на две группы:

1) вызывающие первичные разрушения клеток и волокон тканей (гиалуронидаза, нейраминидаза, протеазы и др.);

2) вызывающие образование токсических веществ. Последние представляют собой продукты метаболизма, образующиеся в организме хозяина при гидролизе мочевины (микробная уреаза), белков (декарбоксилазы аминокислот, способствующие накоплению в кишечнике повышенного количества токсических биогенных аминов) и др.

10.1.2. Характеристика бактериальных токсинов

Токсические вещества, синтезируемые бактериями, по своей химической природе относятся к белкам и липополисахаридам. Первые, в зависимости от их связи со стромой бактериальной клетки, подразделяют на полностью секретируемые (экзотоксины), частично секретируемые и несекретируемые. Несекретируемые токсины освобождаются в процессе разрушения бактериальной клетки.

Однако белковые токсины предназначены не только для поражения клеток, тканей и органов человека. Возможно также их участие в метаболических реакциях самих бактерий-продуцентов.

Липополисахариды (ЛПС) — эндотоксины — локализуются в клеточной стенке бактерий и освобождаются только после их разрушения (табл. 10.1).

Наряду с ЛПС токсическими свойствами обладают пептидогликан, тейхоевые кислоты, белки клеточной стенки грамположительных бактерий (например, протеин А стафилококка).

Белковые токсины. В настоящее время описано свыше 80 бактериальных токсинов, которые отличаются друг от друга по молекулярной массе, химической структуре, клеточным «мишеням» макроорганизма и биологической активности.

Таблица 10.1

Сравнительная характеристика экзо- и эндотоксинов

Характеристика токсина	Тип токсина	
	экзотоксины	эндотоксины
Продуцент	Преимущественно грамположительные бактерии	Продукт аутолиза клеточной стенки грамотрицательных бактерий
Химический состав	Белок	Липополисахарид (ЛПС)
Чувствительность к температуре	Преимущественно высокая	Умеренная
Действие на клетки	Прямое, специфическое	Опосредованное через активированные цитокины (ИЛ-I, ФИО и др.)
Иммуногенность	Высокая. Образование антитоксинов	Слабо выраженная. Отсутствие антител
Переход в анатоксин	Для некоторых токсинов выражен	Отсутствует

Одни из них являются термолабильными, другие термостабильными. Так, например, термолабильный дифтерийный гистоксин разрушается при 60°С в течение 1 ч, а столбнячный — в течение 20 мин. Термостабильные токсины клостридий ботулизма C. botulinum, кишечной палочки, стафилококков могут переносить кратковременное кипячение.

Независимо от сложности строения токсины имеют два центра. Один из них фиксирует молекулу токсина на соответствующем клеточном рецепторе, второй — токсический фрагмент — проникает внутрь клетки, где блокирует жизненно важные метаболические реакции.

Клеточные рецепторы для разных токсинов неодинаковы. Так, на холинсодержащих рецепторах фиксируются тетанолизин, О-стрептолизин, пневмолизин и др., на ганглиозидах определенного типа — тетаноспазин, холероген, энтеротоксины кишечных бактерий и др.

Биологическая активность белковых токсинов проявляется в специфичности токсического действия, антигенных и иммуногенных свойствах.

Специфичность токсического действия определяется избирательной фиксацией токсина на рецепторах клеток-«мишеней» определен-

Таблица 10.2

Классификация и номенклатура основных белковых токсинов

Тип	Группа, подгруппа	Продуцент
Цитотоксины	Антиэлонгаторы	Corinebacterium diphtheriae, Pseudomonas aeruginosa*), Shigella flexneri*), Shigella sonnei*)
	Энтеротоксины	Staphylococcus aureus, Clostridium perfringens
	Дермонекротоксины	Streptococcus pyogenes, Pseudomonas aeruginosa, Bordetella pertussis, Bacillus anthracis
Мембранотоксины	Лейкоцидины	Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Clostridium perfringens, Clostridium botulinum
	Гемолизины: с фосфатидазной активностью	Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Clostridium perfringens
	О-стрептолизин	Streptococcus pyogenes
	пневмолизин	Streptococcus pneumoniae
	α-токсин	Clostridium perfringens
	тетанолизин	Clostridium tetani
Токсины — функциональные блокаторы	Термостабильные энтеротоксины	Klebsiella pneumoniae, Yersinia enterocolitica, Escherichia coli
	Термолабильные энтеротоксины:	Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Salmonella enteritidis
	холероген	Vibrio cholerae
	Токсикоблокаторы: «мышиные» токсины	Yersinia pestis*), Bacillus anthracis*)
	коклюшный стимулирующий фактор	Bordetella pertussis
	Нейротоксины	Clostridium tetani, Clostridium botulinum
Токсины — эксфолиатины, эритрогенины	Эксфолиатины	Staphylococcus aureus
	Эритрогенины	Streptococcus pyogenes

Обозначение: *) — не секретируются

ных тканей (эпителиальной, нервной и др.) организма человека и животных. Различия в механизме действия данных токсинов позволили классифицировать четыре типа, каждый из которых состоит из нескольких групп (табл. 10.2).

Токсины, отнесенные к типу «цитотоксины», блокируют синтез белка на субклеточном уровне. Например, группа антиэлонгаторов, включающая дифтерийный гистотоксин, токсин синегнойной палочки и др., выводят из строя фермент трансферазу II, ответственную за элонгацию (наращивание) полипептидной цепи на рибосоме

Наряду с ними к данному типу принадлежат токсины с энтеропатогенной активностью и дермонекротоксины, поражающие соответствующие ткани и органы.

Второй тип — «мембранотоксины» — повышают проницаемость поверхностной мембраны эритроцитов (гемолизины) и лейкоцитов (лейкоцидины), вызывая гемолиз первых и разрушение вторых. Это связано с тем, что мембранотоксины, встраиваясь в мембрану клетки, образуют в ней канал, который гидрофилен внутри и гидрофобен снаружи. В результате происходит нарушение саморегуляции клетки, погибающей от осмотического шока.

Третий тип — «функциональные блокаторы» — включают термолабильные (ТЛ) и термостабильные (ТС) энтеротоксины, активизирующие клеточную аденилатциклазу, что приводит к повышению проницаемости стенки тонкой кишки и увеличению выхода жидкости в ее просвет — диарее. Этот тип включает, например, холероген, термолабильные энтеротоксины E. coli и других энтеробактерий. К функциональным блокаторам принадлежат токсикоблокаторы и нейротоксины. К первым относятся сибиреязвенный и чумной, «мышиный», токсины, которые в отличие от ТЛ- и ТС-энтеротоксинов инактивируют аденилатциклазу, являясь антагонистами данного фермента. Нейротоксины (тетаноспазмин, ботулинический токсин) блокируют передачу нервных импульсов в клетках спинного и головного мозга.

К четвертому типу относятся эксфолиатины и эритрогенины, образуемые некоторыми штаммами золотистого стафилококка и скарлатинозным стрептококком. Они влияют на процесс взаимодействия клеток между собой и с межклеточными веществами.

Высокую токсичность белковых токсинов можно объяснить особенностью строения участков их молекул, имитирующих структуру субъединиц гормонов, ферментов и нейромедиаторов макроорганизма. Это делает их антиметаболитами вышеупомянутых жизненно важных соединений, блокирующих функциональную активность последних.

Токсичность измеряется в тех же единицах, в которых оценивается вирулентность, — DLM и LD_{50}.

Иммуногенные свойства белковых токсинов проявляются в способности вызывать иммунный ответ со стороны макроорганизма, в частности индуцировать синтез специфических антител — антитоксинов, нейтрализующих гомологичный токсин.

Следующей особенностью ряда белковых токсинов, например столбнячного, дифтерийного и некоторых других, является их способность под действием формалина утрачивать свою ядовитость, сохраняя при этом иммуногенные свойства. Такие токсины получили

название *анатоксинов*. Они применяются в качестве вакцин для профилактики одноименных заболеваний (*см. 19.2*).

Многие бактерии образуют не один, а несколько белковых токсинов, обладающих разным действием: летальным, дермонекротическим, цитотоксическим, нейротоксическим, гемолитическим.

Эндотоксины. К ним относятся липополисахариды (ЛПС), которые содержатся в клеточной стенке грамотрицательных бактерий (*см. 3.1*). Токсические свойства эндотоксина определяются всей молекулой ЛПС, а не отдельными ее частями: полисахаридами или липидом А. Хорошо изучены эндотоксины энтеробактерий (эшерихии, шигеллы и сальмонеллы, бруцеллы, туляремийные бактерии).

ЛПС (эндотоксины) в отличие от токсинов белковой природы (экзотоксинов) более устойчивы к повышенной температуре, менее ядовиты и малоспецифичны. Различные ЛПС при введении в организм подопытных животных вызывают более или менее однотипную реакцию, независимую от того, из каких грамотрицательных бактерий они выделены. При введении больших доз у животных наблюдаются угнетение фагоцитоза, явления выраженного токсикоза, сопровождающегося слабостью, одышкой, расстройством кишечника (диарея), падением сердечной деятельности и понижением температуры тела. При введении небольших доз отмечается обратный эффект: стимуляция фагоцитоза, менее выраженный токсикоз, повышение температуры тела.

У людей поступление эндотоксинов в кровяное русло приводит к лихорадке в результате их действия на клетки крови (гранулоциты, моноциты), из которых выделяются эндогенные пирогены. Начало лихорадки совпадает с ранней лейкопенией, которая сменяется вторичным лейкоцитозом. В результате усиления гликолиза в клетках разных типов может возникнуть гипогликемия.

При эндотоксинемии имеют место гипотония в результате поступления в кровь повышенного количества серотонина и кининов, а также нарушение кровоснабжения органов и ацидоз. ЛПС активирует фракцию С3 комплемента по альтернативному пути (*см. 11.6*), что приводит к снижению его уровня в сыворотке крови и накоплению биологически активных фракций (C3a, C3b, C5a и др.). Большие количества поступившего в кровь эндотоксина приводят к токсико-септическому шоку.

ЛПС — сравнительно слабый иммуноген. Сыворотка крови животных, иммунизированных чистым эндотоксином, не обладает высокой антитоксической активностью и не способна полностью нейтрализовать его ядовитые свойства (см. табл. 10.1).

Как уже было сказано выше, к эндотоксинам можно отнести пептидогликан, тейхоевые и липотейхоевые кислоты, содержащиеся в клеточной стенке. Все эндотоксины, кроме пептидогликана,

оказывают опосредованное действие через изменение активности клеток организма. ДНК бактерий не являются в этом случае исключением. Непосредственным эффектором ДНК является динуклеотид цитозин-гуанин. В организме человека такие пары метилированы, а у бактерий они свободны и легко проникают в клетку, где распознаются иммунной системой, в результате чего происходит выброс цитокинов, контролирующих воспаление. Пептидогликан оказывает прямое токсическое действие. Так, например, пептидогликан клеточной стенки гонококков непосредственно поражает эпителий уретры.

Некоторые бактерии одновременно образуют как белковые токсины, так и эндотоксины, например кишечная палочка, холерный вибрион и др.

10.2. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ВИРУЛЕНТНОСТИ И ТОКСИНООБРАЗОВАНИЯ

Как уже отмечалось, вирулентность обусловлена разными факторами, которые проявляются в адгезии, колонизации, пенетрации, инвазии и подавлении неспецифической и иммунной защиты организма хозяина.

Все упомянутые признаки находятся под контролем хромосомных и плазмидных генов. Так, образование пилей общего типа, участвующих в адгезии, контролируется хромосомными генами. В то же время адгезия, колонизация и некоторые антигены у эшерихий контролируются плазмидами CFA/I, CFA/II, CFA/III.

Образование биологически активных веществ, участвующих в пенетрации, также контролируется плазмидами (например, у шигелл Зонне и других бактерий), а ферментов гиалуронидазы и нейраминидазы, участвующих в инвазии, — хромосомными генами. Синтез антифагоцитарных и антикомплементарных веществ, например протеина А золотистого стафилококка, М-протеина пиогенного стрептококка, капсульного полисахарида пневмококка, контролируют главным образом хромосомные гены. В R-плазмидах бактерий содержатся транспозоны, контролирующие не только множественную устойчивость к разным антибиотикам, но и их токсичность. Трансмиссивность плазмид приводит к распространению упомянутых признаков среди бактериальных клеток собственной и соседних популяций. Генетический контроль токсинообразования осуществляется хромосомными генами или разнообразными плазмидами: F, R, Col и др., содержащими *tox*-транспозоны, а также конвертирующими бактериофагами.

Хромосомные *tox*-гены контролируют образование холерогена, эксфолиатина золотистого стафилококка, энтеротоксина Clostridium perfringens и др. В составе хромосомы лизогенных культур, несущих профаг, обнаружены *tox*-гены, контролирующие образование дифтерийного гистотоксина, скарлатинозного эритрогенного токсина, ботулинического нейротоксина.

В некоторых плазмидах, находящихся в автономном, независимом от хромосомы состоянии, содержатся *tox*-гены, ответственные за образование термолабильного энтеротоксина кишечной палочки и других токсинов. Многие *tox*-плазмиды контролируют образование не самих токсинов, а протоксинов, требующих для своей активации дополнительного компонента. Этим активирующим компонентом являются протеазы, образование которых находится под контролем хромосомных генов. Протеазы участвуют в активации многих протоксинов, например дифтерийного гистотоксина, ботулинического нейротоксина и др. Таким образом, осуществляется совместный контроль плазмидными и хромосомными генами за образованием функционально активных токсинов.

Вирулентность и токсинообразование — непременные атрибуты патогенности — можно рассматривать как проявление селективных преимуществ бактериальных клеток в организме хозяина. Плазмиды, обеспечивающие распространение соответствующих признаков среди клеток бактериальной популяции, способствуют ее выживаемости in vivo. Это свидетельствует о том, что генетическая информация, содержащаяся в плазмидах и транспозонах, важна для клеток популяции только в данных конкретных условиях ее существования. Изменение этих условий, например при попадании бактерий из организма больного в окружающую среду или невосприимчивый организм, лишает их данных преимуществ, что может отразиться на выживаемости популяции в целом в новых условиях существования.

Изменчивость вирулентности, так же как любого другого признака, может носить фенотипический и генотипический характер.

В первом случае ослабление вирулентности является нестойким явлением, которое может быть связано in vitro с неблагоприятными условиями культивирования бактерий или составом питательных сред.

Ослабление вирулентности происходит при обработке бактериальной популяции гомологичной иммунной сывороткой. Однако в условиях организма механизм действия может быть связан не с изменением вирулентности бактерий, а с селекцией устойчивых маловирулентных клеток, предсуществующих в гетерогенной бактериальной популяции. При последующем культивировании восстановления вирулентности полученной бактериальной культуры может не произой-

ти, если все вирулентные особи были нейтрализованы гомологичной антисывороткой.

Аналогичным образом происходит селекция авирулентных мутантов при воздействии на бактериальную популяцию соответствующих селективных факторов. Так, например, авирулентный штамм БЦЖ был селекционирован при многократных пересевах в течение многих лет вирулентной культуры микобактерий туберкулеза на картофельно-глицериновой среде с бычьей желчью.

Методы ослабления вирулентности патогенных микроорганизмов имеют большое практическое значение для получения вакцинных штаммов, т.е. таких авирулентных микробных культур, из которых получают живые вакцины для специфической профилактики инфекционных заболеваний.

Повышение вирулентности достигается путем культивирования бактерий in vitro в оптимальных условиях или при многократных пассажах маловирулентной культуры через организм чувствительного лабораторного животного. В данном случае также имеет место селекция вирулентных особей, содержащихся в гетерогенной бактериальной популяции, что в конечном итоге может привести к повышению ее вирулентности.

Генотипические изменения патогенных микроорганизмов имеют место при мутациях, рекомбинациях, а также миграции внехромосомных факторов наследственности (Is-элементы, транспозоны, плазмиды), контролирующих вирулентность и токсинообразование.

10.3. ИНФЕКЦИОННЫЕ СВОЙСТВА ВИРУСОВ И ОСОБЕННОСТИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Вирусы человека и животных являются облигатными внутриклеточными паразитами, которые в чувствительных к ним клетках организма хозяина вызывают продуктивную инфекцию, заканчивающуюся образованием многочисленного потомства. Отсутствие среди вирусов непатогенных особей позволяет опустить применительно к ним такой термин, как патогенность. Вирусы не могут обладать вирулентными свойствами, поскольку вирулентность присуща только живым активно метаболизирующим клеткам патогенных микроорганизмов, поэтому вместо понятий «патогенность» и «вирулентность» в случае вирусов более правомочен термин «инфекционность» или «инфекциозность».

В основе вирусных инфекций лежит взаимодействие вирусного и клеточного геномов. Это находит свое выражение в освобождении и переключении рибосом клетки хозяина на синтез вирусспеци-

фических белков, прежде всего ферментов, или в интеграции вирусной нуклеиновой кислоты в хромосому зараженный клетки.

Вирусные болезни, так же как и другие инфекционные заболевания, возникают при проникновении возбудителя в макроорганизм через определенные входные ворота инфекции. Например, вирусы гриппа, кори и многие другие проникают в организм человека только аэрозольным путем, а вирусы герпеса — множественными путями.

Следующий этап вирусной инфекции состоит в адсорбции вируса на рецепторах чувствительных клеток организма хозяина. Однако в отличие от бактериальных, грибковых и протозойных инфекций все последующие события определяются вирусной нуклеиновой кислотой. Это выражается в характерных особенностях, присущих только вирусным инфекциям.

Первая особенность состоит в способности многих РНК- и ДНК-содержащих вирусов вызывать интегративную инфекцию (вирогению), которая происходит при встраивании вирусной нуклеиновой кислоты в хромосому клетки хозяина. Это имеет место при гепатите В, аденовирусной и герпетической инфекции, СПИДе и др. При вирогении отсутствуют стадии репродукции, сборки и выхода вируса из клетки. Клетки с интегрированным вирусным геномом (провирусом) могут сохранить свои функции. Однако в определенных условиях интеграция вирусного генома может привести к мутациям и неконтролируемому делению клетки. Встроенная вирусная ДНК синхронно реплицируется с клеточной ДНК и при делении материнской клетки передается дочерним. При интегративной инфекции вирусный геном может не транскрибироваться или транскрибироваться частично. В случае выщепления из клеточной ДНК происходит его транскрипция и автономная репликация, которая заканчивается выходом вирусного потомства так же, как при продуктивной инфекции.

Вторая особенность обусловлена наличием стадии вирусемии, во время которой вирус циркулирует в крови. В кровь вирус может поступать из лимфатической системы, переноситься лейкоцитами, проникать в кровеносные капилляры из первично инфицированных клеток. Исключение составляют вирусы, распространяющиеся нейрогенным путем (вирусы бешенства, простого герпеса и др.).

Третья особенность заключается в поражении вирусами лимфоцитов — клеток иммунной системы организма человека. Вирусы гриппа, кори, герпеса, полиомиелита, ротавирусы и др. угнетают иммунные реакции Т-лимфоцитов. Вирусы герпеса, вызывающие ветряную оспу и опоясывающий лишай, вирус цитомегалии индуцируют увеличение абсолютного количества Т-лимфоцитов, а вирус клещевого энцефалита вызывает их активацию.

Лимфотропность подавляющего большинства вирусов человека и животных существенно отражается на патогенезе и исходе вирусных заболеваний, что проявляется в возникновении иммунодефицитных и других иммунопатологических состояний.

Наиболее специализированными облигатно-лимфотропными вирусами являются три вируса, поражающие Т-лимфоциты человека, и один — В-лимфоциты. Два первых вируса (HTLV-I и HTLV-II от англ. *human T-cell limphotropic virus*) вызывают лейкоз вследствие пролиферации Т-лимфоцитов. Третий вирус HTLV-III, или ВИЧ, является возбудителем СПИДа, который в отличие от первых двух вызывает деструкцию Т-лимфоцитов. Вирус герпеса Эпштейна–Барр — возбудитель инфекционного мононуклеоза — вызывает пролиферацию В-лимфоцитов.

Четвертая особенность, характерная для ряда вирусных инфекций (оспа, бешенство, герпес, корь и др.), состоит в образовании внутриядерных или внутрицитоплазматических включений. Они имеют разную форму и величину. Одни из них (базофильные включения), такие, как тельца Гварниери при оспе и тельца Бабеша–Негри при бешенстве, окрашиваются основными красителями и представляют собой внутриклеточные скопления вируса. Они имеют диагностическое значение.

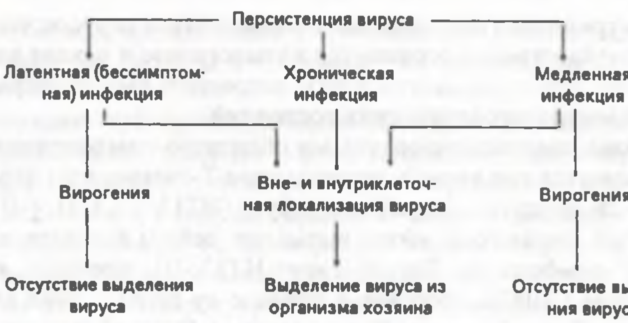
Последствия инфекционного процесса, вызванного вирусами, разнообразны — от сохранения жизнеспособности клетки до широкого спектра поражения. При этом вирусы либо исчезают из организма после выздоровления, либо сохраняются в нем в течение разных сроков, измеряемых в некоторых случаях многими годами. Наличие вируса в организме не всегда сопровождается его выделением.

Вирусные болезни протекают в виде продуктивной и персистирующей инфекций. Продуктивная, или острая, инфекция сопровождается репродукцией вирусов в клетках хозяина и сравнительно быстрым выделением их из организма.

Острые инфекции можно подразделить на очаговые и генерализованные. Первые проявляются в месте локальной репродукции вируса. Вторые — при генерализации, когда из первичного очага вирус распространяется по организму, главным образом гематогенным путем, формируя вторичные очаги инфекции.

Многие вирусы персистируют в различных клетках организма человека. Например, аденовирусы могут длительно персистировать в миндалинах, вирусы герпеса — в ганглиях тройничного нерва. Персистирующая инфекция проявляется в разных формах — латентной, хронической и медленной (схема 10.1).

Латентная бессимптомная инфекция характеризуется длительным, а в некоторых случаях пожизненным носительством вируса, который не покидает организм и не выделяется в окружающую среду. В одних



С х е м а 10.1. Формы персистенции вирусов

случаях это связано с дефектностью вируса, точнее, его генома, в результате чего он утрачивает способность к репродукции и образованию потомства. В других — с интеграцией вирусной ДНК или РНК в клеточный геном и возникновением интегративной инфекции. При этом в клеточную хромосому может встроиться вирусная ДНК полностью, как это имеет место в случае вируса герпеса, либо происходит ее частичное встраивание (вирус гриппа). Последствия такого встраивания трудно предсказать. При герпетической инфекции это часто приводит к возникновению хронической инфекции, при гриппе — не сопровождается видимыми изменениями в течение инфекционного процесса, что может быть связано с неполноценностью вирусной РНК или другими причинами. Они, по-видимому, могут зависеть и от того локуса хромосомы, в который происходит интеграция вирусной нуклеиновой кислоты. В том случае, если она встраивается вблизи промотора, может произойти нарушение регуляции синтеза белка, что приводит к нерегулируемому размножению клеток и возникновению опухоли. Так, например, первичный рак печени у людей, перенесших гепатит, связывают с встраиванием ДНК вируса гепатита В в геном гепатоцитов.

Интеграция РНК-вирусов в клеточный геном происходит путем обратной транскрипции. В 80-х годах в клетках людей были обнаружены тысячи копий ретровирусных генов неизвестного происхождения, напоминающие транспозоны бактерий (*см. 6.2.2*). Их называют ретротранспозонами вследствие образования путем обратной транскрипции.

Встраивание этих ретротранспозонов в хромосомы клеток людей и животных, так же как и в клетки бактерий, дрожжей и насекомых, происходит беспорядочно. Это может привести к мутациям, нарушающим работу мутировавшего гена, или изменению уровня его экспрессии (активации). Таким образом, данный ген становится онкогеном, индуцирующим образование опухоли.

У человека продукты обратной транскрипции (ретротранспозоны, эндогенные провирусы) составляют примерно 10% клеточного генома.

Хронические вирусные инфекции также рассматривают как одну из форм персистенции вируса, которая продолжается в течение нескольких месяцев и лет. Данную форму инфекции вызывают аденовирусы, вирусы гепатита, герпеса и др., которые периодически выделяются из организма больного во внешнюю среду (см. схему 10.1).

При абортивной инфекции чаще всего происходит утрата клеткой вирусной нуклеиновой кислоты после ее выщепления из клеточного генома.

Для медленных инфекций характерны очень длинный инкубационный период, продолжительность которого измеряется многими месяцами и годами, постепенное нарастание симптомов заболевания, которое часто заканчивается смертью больного. К медленным инфекциям относятся прогрессирующие заболевания, поражающие ЦНС: болезнь Крейтцфельда–Якоба, подострый склерозирующий панэнцефалит, рассеянный склероз, амиотрофический боковой склероз и некоторые другие. При многих медленных инфекциях вирусы выделяются из организма (например, при болезни Крейтцфельда–Якоба). В случае интеграции вируса в клеточный геном его выделение из организма прекращается (*см. 24.5*).

10.4. ЭВОЛЮЦИЯ МИКРОБНОГО ПАРАЗИТИЗМА И ПРОИСХОЖДЕНИЕ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Паразитизм, так же как и другие формы взаимоотношений между паразитами и их хозяевами, возник, развивался и совершенствовался в процессе эволюции микроорганизмов. Полагают, что свободноживущие микроорганизмы-сапрофиты появились свыше 3 млрд. лет тому назад во время зарождения жизни на нашей планете, а микроорганизмы-паразиты значительно позже — по мере образования эукариотов.

В основе паразитизма лежат расширение и обновление экологических возможностей сапрофитов, поскольку перед ними открылись новые экологические сферы распространения. Так, возникли факультативные (необязательные) паразиты, многие из которых, не нанося заметных повреждений организму хозяина, извлекают для себя пользу. Такая форма межвидовых отношений называется комменсализмом. Она характерна для сапрофитных гнилостных микроорганизмов, которые освоили новую экологическую нишу — кишечник животных и че-

ловека. К ним относятся условно-патогенные, или оппортунистические, виды бактерий (эшерихии, протей и др.), дрожжеподобные грибы, популяции которых в нормальных условиях не наносят ущерба хозяину. Однако в экстремальных ситуациях данные микроорганизмы вызывают патологические процессы.

По мере увеличения зависимости от организма хозяина происходило дальнейшее совершенствование паразитизма, которое привело к появлению патогенных видов — возбудителей инфекционных заболеваний людей и животных. Многие из них утратили сапрофитную форму в своем развитии в отличие от условно-патогенных микроорганизмов. Они оказались неспособными не только размножаться, но даже сохраняться в окружающей среде.

Так, трепонема сифилиса, бактерии коклюша и др. выживают во внешней среде всего несколько минут, энтеробактерии — несколько недель и месяцев и т.д. Однако спорообразующие патогенные (бациллы сибирской язвы) и условно-патогенные бактерии (клостридии столбняка и газовой гангрены) сохраняются в течение многих месяцев и лет в виде спор.

По мере увеличения зависимости паразитов от организма хозяина появились факультативные внутриклеточные паразиты. К ним относятся гонококки и менингококки, микобактерии туберкулеза, шигеллы и другие бактерии, способные размножаться в клетках организма человека. Перечисленные виды не утратили способности размножаться на искусственных питательных средах, что свидетельствует о сохранении у них набора ферментов, необходимых для анаболических и катаболических реакций. На более поздних этапах эволюции появились облигатные внутриклеточные паразиты, к которым относятся хламидии, риккетсии и патогенные простейшие. Эти возбудители сохранили клеточную организацию, но лишились генов, контролирующих образование ряда ферментов, необходимых для важнейших метаболических реакций, вследствие чего они утратили способность расти на питательных средах.

Таким образом, в результате регрессивной эволюции появились облигатные внутриклеточные паразиты с редуцированными метаболическими реакциями, полностью зависящие от своего хозяина. Как у внеклеточных, так и у внутриклеточных паразитов, подавляющее число которых относится к патогенным видам, в процессе эволюции появились факторы, защищающие их от неспецифической и иммунной защиты организма хозяина.

Основной движущей силой эволюции микробного паразитизма, во время которой сформировались патогенные виды, явились мутации и рекомбинации генов. В результате направленного отбора особей, наиболее приспособленных к конкретным условиям суще-

ствования в организме человека, происходило совершенствование вирулентных и токсических свойств возбудителей, формирование новых их разновидностей и видов. Основные селективные факторы направленного отбора, действующие в организме человека и животных, относятся к неспецифической и иммунной защите организма хозяина, а также постоянно увеличивающемуся арсеналу этиотропных химиотерапевтических и иммунных (вакцины, иммуноглобулины) препаратов. При этом число новых генотипов, выживших в результате направленного отбора, находится в прямой зависимости от количества действующих селективных факторов. Это приводит к постоянному обновлению генофонда микробной популяции.

Особое значение в эволюции патогенов играет постоянная миграция информации с внехромосомными факторами наследственности или транспозируемыми элементами (транспозоны, плазмиды).

Как уже отмечалось (*см. 6.2*), они контролируют образование самых разнообразных продуктов: токсинов, ферментов, антигенов, которые в определенных случаях придают селективные преимущества несущим их клеткам возбудителя.

В этой связи встает вопрос о происхождении и роли транспозируемых элементов в эволюции патогенных микроорганизмов (*см. 6.11*). Наиболее вероятно, что транспозируемые элементы произошли из хромосомных генов, которые приобрели способность выщепляться из состава бактериальных ДНК. Об этом свидетельствует тот факт, что хромосомные гены, как правило, ответственны за образование тех же факторов патогенности, которые контролируются транспозируемыми элементами. В автономном состоянии последние существуют в циркулярной форме, способной обратно встраиваться в бактериальную хромосому. При этом нередко в месте интеграции возникает инсертационная мутация вследствие сдвига считывания.

Таким образом, эволюционная роль внехромосомных факторов наследственности состоит в повышении гетерогенности бактериальных популяций, что в конечном итоге способствует выживанию тех биоваров с измененной антигенностью и патогенностью, которые наиболее приспособлены к данным конкретным условиям существования в организме своего хозяина.

В настоящее время установлено сходство между провирусами и транспозируемыми элементами. Провирусы представляют собой такую форму вирусной ДНК, которая встроена в хромосому клетки хозяина. Выше данная форма взаимодействия между вирусом и клеткой была охарактеризована как интегративная инфекция. В этой связи можно допустить, что ДНК-вирусы произошли из транспозируемых элементов бактериальных клеток, которые при выщеплении из бактериальной хромосомы могли приобрести структурные гены, кон-

тролирующие образование вирусного капсида, и соответствующие регуляторные гены.

Вместе с тем широкое распространение обратной транскрипции среди вирусов, бактерий, дрожжей, растений насекомых, позвоночных животных и человека является одним из аргументов в пользу гипотезы о первоначальном образовании РНК.

Вопросы для самоконтроля

1. Дайте общую характеристику инфекции и ее разнообразным формам.
2. Какие признаки микроорганизма определяют развитие инфекции? Дайте характеристику каждому из них.
3. Как патогенный потенциал бактерий проявляется в организме хозяина?
4. Дайте характеристику факторам вирулентности бактерий.
5. Каков химический состав и механизм действия бактериальных токсинов?
6. В чем состоят различия между белковыми токсинами и ЛПС (эндотоксином)?
7. Как осуществляется генетический контроль факторов вирулентности и токсинообразования?
8. Чем определяются инфекционные свойства вирусов и каковы особенности вирусных инфекций?
9. Каковы механизмы персистенции вирусов и чем они отличаются от персистенции бактерий?
10. Каковы возможные пути происхождения патогенных микроорганизмов и вирусов?

Часть третья
ИММУНОЛОГИЯ

ГЛАВА 11
ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА, ВИДЫ И ФОРМЫ ИММУНИТЕТА

Иммунология — наука, изучающая иммунитет и использование иммунологических понятий и методов в других областях науки и практики.

Иммунитетом (*Immunitas* — свобода от чего-либо) называют совокупность свойств и механизмов, обеспечивающих постоянство состава организма и его защиту от инфекционных и других чужеродных для него агентов. Конкретно это сводится к контролю за развитием и действием в организме микроорганизмов и иммунологическому надзору за гомеостазом (постоянством состава) собственных клеток и тканей, включая процессы формообразования, регенерации, а также своевременного удаления отживших, поврежденных, мутантных и опухолевых клеток.

Иммунологические функции осуществляются на двух уровнях. Первый — филогенетически более древний уровень — составляют неспециализированные защитные механизмы, действующие против любого чужеродного фактора. Эти механизмы действуют постоянно и обеспечивают состояние, получившее название «*врожденный, естественный, иммунитет*, или *неспецифическая резистентность*».

Механизмы неспецифической резистентности функционируют в организме постоянно, обуславливая в случаях массивного микробного или иного дестабилизирующего воздействия воспалительную реакцию, одинаковую при разных возбудителях. Развитие воспалитель-

Схема 11.1. Виды иммунитета

ной реакции способствует возникновению специфического иммунного ответа, который можно рассматривать как развитие второй, более эффективной линии обороны против возбудителя инфекционного процесса.

Второй уровень иммунологических функций составляют механизмы, определяющие способность организма к избирательному (специфическому) ответу на конкретные чужеродные структуры, именуемые антигенами. Эта способность формируется в каждом организме в ответ на воздействие конкретного антигенного вещества. Данная группа функций получила название *приобретенного*, или *специфического*, иммунитета (схема 11.1)

Естественный иммунитет обуславливает постоянный уровень резистентности организма к любому чужеродному субстрату, но вследствие однотипного неспециализированного ответа на разные потенциально-опасные для организма агенты менее эффективен, чем приобретенный иммунитет. Развитие специализированной реакции обеспечивает локальное высокоэффективное воздействие на объект, интенсивность которого на пике реакции на несколько порядков выше, чем в начале процесса.

Врожденный и приобретенный иммунитет реализуются действием клеток и гуморальных факторов, что привело к формулировке терминов — *клеточный* и *гуморальный* иммунитет.

Особенностью приобретенного иммунитета является развитие *иммунологической памяти* — способности к быстрому и сильному ответу на повторное воздействие антигена. В соответствии с этим реакция организма на первое воздействие антигена получила название «*первичный ответ*», а реакция на повторное воздействие антигена — «*вторичный ответ*». После перенесения инфекционного заболевания формируется состояние, именуемое *постинфекционным им-*

Таблица 11.1

Характеристики врожденного и приобретенного иммунитета

Виды иммунитета	Врожденный иммунитет	Приобретенный иммунитет
Функция	Поддержание гомеостаза организма: 1. Контроль действия инфекционных и других потенциально-опасных факторов 2. Иммунологический надзор за постоянством состава организма и резистентностью к опухолевому росту 3. Контроль процессов формообразования и регенерации	
Распознавание	Неспецифическое распознавание чуждых для организма субстратов и реакция на них по единой программе	Специфическое распознавание антигенов и специализированная реакция на них
Активность системы	Относительно постоянная, не зависит от специфичности чужеродного агента	Многократно усиливается после контакта с антигеном
Иммунологическая память	Отсутствует	Имеется
Клеточная основа	Клетки покровов и внутренних барьеров, фагоцитирующие клетки, естественные киллеры	Лимфоциты, антиген-представляющие клетки (дендритные, макрофаги и др.)
Гуморальные факторы	Лизоцим, комплемент, белки острой фазы	Иммуноглобулины (антитела)

мунитетом, которое состоит в высокой устойчивости к возможности повторного развития того же заболевания. Аналогом постинфекционного иммунитета является *поствакцинальный иммунитет*, развивающийся после проведения прививок (вакцинации).

При некоторых заболеваниях (туберкулез, сифилис) устойчивость к повторному заражению сохраняется на протяжении того времени, пока в организме присутствует возбудитель болезни. Такой иммунитет называют *инфекционным*, или *нестерильным*.

Формирование приобретенного имунитета — процесс активной перестройки иммунной системы, приводящий к образованию гуморального либо клеточного иммунитета — антител и клеток, способных эффективно взаимодействовать с антигенами, вызвавшими развитие иммунной реакции. В этих случаях возникший иммунитет называют *активным*.

Антитела и клетки иммунного организма способны вызвать состояние иммунитета в другом организме, если будут перенесены искусственно или попадут естественным путем. Такой иммунитет полу-

чил название *пассивный*. Пассивный иммунитет возникает после введения профилактических или лечебных сывороток либо выделенных из них иммуноглобулинов. Пассивный иммунитет формируется у новорожденного ребенка за счет поступления материнских антител через плаценту при беременности (*плацентарный иммунитет*), либо с молозивом и молоком при кормлении ребенка. Иммунитет, воспринятый от матери, может быть назван *материнским иммунитетом*.

Для создания пассивного иммунитета используют пересадку лимфоцитов иммунного организма или клеток самого пациента, активированных антигеном или цитокинами вне организма. Такой иммунитет получил название *адаптивного* (воспринятого).

Иммунитет может формироваться против микроорганизмов, их токсинов, вирусов, антигенов опухолей. В этих случаях иммунитет называют антимикробным, антитоксическим, антивирусным, противоопухолевым соответственно. При трансплантации несовместимых тканей возникает *трансплантационный иммунитет* (реакция отторжения трансплантата).

Трансплантированные клетки иммунной системы (например, клетки костного мозга) могут вызвать у реципиента реакцию «*трансплантат против хозяина*». Иммунные реакции могут при определенных условиях возникать и против собственных антигенов организма. Эти реакции называют *аутоиммунными*.

Поступление в организм антигена через дыхательные пути, пищеварительный тракт и другие участки слизистых поверхностей и кожи нередко обуславливает развитие выраженной локальной иммунной реакции. В таких случаях речь идет о *местном иммунитете*. Поступление антигена в одни участки слизистых поверхностей обуславливает развитие *секреторного иммунитета*, связанного с образованием секреторных иммуноглобулинов класса А, защищающих все слизистые поверхности. Вместе с тем ни один орган и никакая ткань не обладают изолированной от организма самостоятельной иммунной системой, и местный иммунитет рассматривается как локальное проявление общей иммунной защиты организма.

Организм человека способен отвечать специфической иммунной реакцией на сотни тысяч самых разнородных антигенов. Помимо микроорганизмов и их продуктов иммунные реакции могут вызвать компоненты растений, животных, пища, лекарственные вещества и любые другие макромолекулы с которыми организм контактирует в течение своей жизни. Сам человек представляется сложной системой разнородных антигенов, которые, попав в организм другого человека, вызывают тяжелые, часто смертельные иммунологические реакции. Пересадка тканей одного человека другому без контроля на совместимость вызывает трансплантационный иммунитет, приводящий к отторжению трансплантата. Однако собственные антигены, входящие

в состав всех тканей организма, аутоиммунной реакции не вызывают. Состояние ареактивности к собственным антигенам носит название *естественной иммунологической толерантности*. Наличие естественной толерантности организма к собственным антигенам — необходимое условие для развития способности к иммунному ответу на чужеродные антигены. Естественная иммунологическая толерантность к собственным антигенам закладывается в каждом организме в эмбриональном периоде благодаря контакту элементов формирующейся иммунной системы с собственными антигенами. Утрата естественной иммунологической толерантности к своим антигенам создает предпосылки для развития аутоиммунных реакции, а перспективы искусственного создания или восстановления иммунологической толерантности позволяют найти новые пути лечения аутоиммунных болезней и трансплантации несовместимых органов и тканей. Иммунологическая толерантность рассматривается как противоположность активному иммунитету — «иммунитет со знаком минус».

Развитие специфического иммунного ответа проходит несколько этапов. Первый этап — скрытый, или индуктивный, — начинается с перестройки иммунной системы и не сопровождается появлением антител или сенсибилизированных клеток. Второй этап — период появления и нарастания в организме антител и сенсибилизированных лимфоцитов, уровень которых достигает максимума к пику иммунного ответа. Затем наступает третий этап — постепенное снижение выраженности указанных показателей до уровня возможности их выявления, либо продолжается продукция небольших количеств антител в течение длительного времени. Это способствует поддержанию резистентности организма к возбудителю иммунного ответа. Иммунная реакция на первое воздействие антигена носит название *первичный ответ*. Ответ на повторное воздействие антигена — *вторичный ответ* — проходит те же этапы (рис. 11.1). Однако в отличие от первичного при вторичном ответе антиген воздействует на подготовленный (сенсибилизированный) организм, обладающий иммунологической памятью, вследствие чего все этапы ответа проходят

Рис. 11.1. Первичный и вторичный иммунный ответ

вдвое быстрее, а интенсивность иммунной реакции выше на порядок и более, чем при первичном ответе.

При врожденном и приобретенном иммунитете неспецифические и специфические реакции, как правило, сочетаются, обеспечивая наиболее эффективный ответ на воздействие дестабилизирующих факторов.

Вопросы для самоконтроля

1. Что такое «иммунитет»?
2. В чем отличия врожденного и приобретенного иммунитета?
3. Место иммунологической естественной толерантности в осуществлении иммунологических функций.
5. Что такое «первичный и вторичный иммунный ответ»?
6. Дайте определение понятий «клеточный и гуморальный иммунитет».
7. Дайте определение постинфекционному, поствакцинальному и нестерильному (инфекционному) иммунитету.
8. Что понимают под иммунной (иммунологической) памятью?

ГЛАВА 12

ФАКТОРЫ И МЕХАНИЗМЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА (НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ)

Для возникновения инфекционного процесса важное значение наряду со свойствами возбудителя имеет состояние макроорганизма. Оно определяется сложным комплексом факторов и механизмов, тесно связанных между собой, и характеризуется как *восприимчивость* (чувствительность) или *невосприимчивость* (резистентность) к инфекции.

Неспецифическую противоинфекционную защиту организма осуществляют кожные и слизистые покровы, внутренние барьеры организма, лимфатические образования во всех тканях и в виде самостоятельных органов — лимфатических узлов, фагоцитирующие клетки и естественные киллеры, а также гуморальные факторы — лизоцим, белки острой фазы, комплемент, интерферон и другие цитокины. Важнейшим фактором неспецифической защиты является нормальная микрофлора кожи и слизистых (табл. 12.1). Часть упомянутых факторов действует постоянно (лизоцим), другие — только после активации (комплемент), либо после стимуляции продуцирующих их клеток (интерферон).

Таблица 12.1

Факторы неспецифической защиты организма

Внешние барьеры	Внутренние барьеры	Клеточные факторы	Гуморальные факторы
Нормальная микрофлора	Лимфоузлы	Фагоциты	Лизоцим Белки острой фазы
Кожа	Тканевые, клеточные барьеры	Естественные киллеры	Комплемент
Слизистые			Интерфероны
			Другие цитокины

12.1. НОРМАЛЬНАЯ МИКРОФЛОРА ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА

Нормальная микрофлора человека (*см. главу 7.5*) играет важную роль в защите организма от патогенных микроорганизмов. Представители нормальной микрофлоры участвуют в неспецифической защите заселенных ими участков желудочно-кишечного, дыхательного, мочеполового трактов, кожных покровов.

Обитающие в определенных биотопах микроорганизмы препятствуют адгезии и колонизации поверхностей тела патогенными микроорганизмами. Защитное действие нормальной микрофлоры может быть обусловлено конкуренцией за питательные вещества, изменением рН среды, продукцией колицинов и других активных факторов, препятствующих внедрению и размножению патогенных микроорганизмов.

Нормальная микрофлора способствует созреванию иммунной системы и поддержанию ее в состоянии высокой функциональной активности, так как компоненты микробной клетки неспецифически стимулируют клетки иммунной системы. Существенная защитная и иммуностимулирующая роль нормальной микрофлоры выявляется тогда, когда *гнотобионты* (животные, выращенные в стерильных условиях) погибают после инфицирования непатогенными микробами. Лечение антибиотиками, при котором меняется состав нормальной микрофлоры, а иногда происходит полное ее исчезновение, вызывает тяжелые *дисбактериозы* (*см. главу 24.3*), существенно осложняющие заболевание. В случаях нарушения состава биотопов или при существенном снижении естественной иммунной защиты организма заболевания могут вызвать и представители нормальной микрофлоры организма.

12.2. ВНЕШНИЕ БАРЬЕРЫ

12.2.1. Кожа и слизистые оболочки

Для большинства микроорганизмов, в том числе патогенных, неповрежденная кожа и слизистые оболочки служат барьером, препятствующим их проникновению внутрь организма. Постоянное слущивание верхних слоев эпителия, секреты сальных и потовых желез способствуют удалению микроорганизмов с поверхности кожи. Однако кожа представляет собой не только механический барьер, она обладает также бактерицидными свойствами, связанными с действием молочной и жирных кислот, различных ферментов, выделяемых потовыми и сальными железами. Поэтому микроорганизмы не входя-

щие в число постоянных обитателей кожных покровов быстро исчезают с ее поверхности.

Еще более выраженными защитными функциями обладают конъюнктива глаза, слизистые оболочки носоглотки, дыхательного, желудочно-кишечного и мочеполового трактов. Слезы, моча и секреты, выделяемые слизистыми, слюнными и пищеварительными железами, не только смывают микроорганизмы с поверхности слизистых оболочек, но и оказывают бактерицидное действие, обусловленное содержащимися в них ферментами, в частности лизоцимом.

Защитные функции кожи и слизистых не ограничиваются неспецифическими механизмами. На поверхности слизистых, в секретах кожных, молочных и других желез присутствуют секреторные иммуноглобулины, обладающие бактерицидными свойствами и активирующие местные фагоцитирующие клетки. Кожа и слизистые принимают активное участие в антиген-специфических реакциях приобретенного иммунитета. Их относят к самостоятельным компонентам иммунной системы (*см. главу 13*).

12.3. ВНУТРЕННИЕ БАРЬЕРЫ

К внутренним барьерам организма относится система лимфатических сосудов и лимфатических узлов. Микроорганизмы и другие чужеродные частицы, проникшие в ткани, фагоцитируются на месте или доставляются фагоцитами в лимфатические узлы или другие местные лимфатические образования, где формируется воспалительный процесс, направленный на уничтожение возбудителя. В тех случаях, когда местная реакция оказывается недостаточной, процесс распространяется на следующие регионарные лимфоидные образования, служащие новым барьером проникновения возбудителя во внутреннюю среду организма.

Существуют функциональные гисто-гематические барьеры, препятствующие проникновению возбудителей и чужеродных субстратов из крови в головной мозг, репродуктивную систему, глаз.

Мембрана каждой клетки также служит барьером для проникновения в нее посторонних частиц и молекул.

12.3.1. Клеточные факторы

12.3.1.1. Фагоцитирующие клетки

Защитная роль подвижных клеток крови и тканей была впервые обнаружена И.И. Мечниковым в 1883 г. Он назвал эти клетки фагоцитами и сформулировал основные положения фагоцитарной теории иммунитета.

Рис. 12.1. Макрофаг. ЭМ

Все фагоцитирующие клетки организма, по И.И. Мечникову, подразделяются на *макрофаги* и *микрофаги*. К микрофагам относятся полиморфноядерные гранулоциты крови: нейтрофилы, эозинофилы и базофилы. Макрофаги различных тканей организма (соединительной ткани, печени, легких и др.) вместе с моноцитами крови и их костномозговыми предшественниками (промоноциты и монобласты) объединены в особую систему мононуклеарных фагоцитов (СМФ). СМФ филогенетически более древняя по сравнению с иммунной системой. Она формируется в онтогенезе достаточно рано и имеет определенные возрастные особенности.

Микрофаги и макрофаги (рис. 12.1) имеют общее миелоидное происхождение — от полипотентной стволовой клетки, которая является единым предшественником грануло- и моноцитопоэза. В периферической крови содержится больше гранулоцитов (от 60 до 70% всех лейкоцитов крови), чем моноцитов (от 1 до 6%). Вместе с тем длительность циркуляции моноцитов в крови значительно больше (полупериод 22 ч), чем короткоживущих гранулоцитов (полупериод 6,5 ч). В отличие от гранулоцитов крови, являющихся зрелыми клетками, моноциты, покидая кровяное русло, в соответствующем микроокружении созревают в тканевые макрофаги. Внесосудистый пул мононуклеарных фагоцитов в десятки раз превышает их число в крови. Особенно богаты ими печень, селезенка, легкие.

Все фагоцитирующие клетки характеризуются общностью основных функций, сходством структур и метаболических процессов. Наружная плазматическая мембрана всех фагоцитов является активно функционирующей структурой. Она отличается выраженной складчатостью и несет множество специфических рецепторов и антигенных маркеров, которые постоянно обновляются (рис. 12.2). Фагоциты снабжены высокоразвитым лизосомным аппаратом, в котором содержится богатый арсенал ферментов. Активное участие лизосом в функциях фагоцитов обеспечивается способностью их мембран к слиянию с мембранами фагосом или с наружной мембраной. В после-

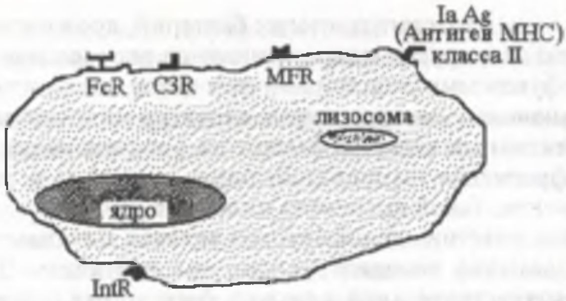


Рис. 12.2. Рецепторы макрофага:
IntR — рецептор к гамма-интерферону;
FcR — рецептор к Fc-фрагменту Ig;
C3R — рецептор к фракции комплемента C3;
MFR —маннозно-фукозный рецептор

днем случае происходит дегрануляция клеток и сопутствующая секреция лизосомных ферментов во внеклеточное пространство.

Фагоцитам присущи три функции:

1 — защитная, связанная с очисткой организма от инфекционных агентов, продуктов распада тканей и т.д.;

2 — представляющая, заключающаяся в презентации лимфоцитам антигенных эпитопов на мембране фагоцита;

3 — секреторная, связанная с секрецией лизосомных ферментов и других биологически активных веществ — цитокинов, играющих важную роль в иммуногенезе.

Различают следующие последовательно протекающие стадии фагоцитоза.

1. Хемотаксис — целенаправленное передвижение фагоцитов в направлении химического градиента хемоаттрактантов в окружающей среде. Способность к хемотаксису связана с наличием на мембране специфических рецепторов для хемоаттрактантов, в качестве которых могут выступать бактериальные компоненты, продукты деградации тканей организма, активированные фракции системы комплемента — C5a, C3a (*см. 12.3.2.2*), продукты лимфоцитов — лимфокины.

2. Адгезия (прикрепление) также опосредована соответствующими рецепторами, но может протекать в соответствии с законами неспецифического физико-химического взаимодействия. Адгезия непосредственно предшествует эндоцитозу (захвату).

3. Эндоцитоз является основной физиологической функцией так называемых профессиональных фагоцитов. Различают фагоцитоз — в отношении частиц с диаметром не менее 0,1 мкм и пиноцитоз — в отношении более мелких частиц и молекул. Фагоцитирующие клетки способны захватывать инертные частицы угля, кармина, латекса обтеканием их псевдоподиями без участия специфических рецепторов.

В то же время фагоцитоз многих бактерий, дрожжеподобных грибов рода Candida и других микроорганизмов опосредован специальными маннозофукозными рецепторами фагоцитов, распознающими углеводные компоненты поверхностных структур микроорганизмов. Наиболее эффективным является фагоцитоз, опосредованный рецепторами, для Fc-фрагмента иммуноглобулинов (*см. 15.2*) и для С3-фракции комплемента. Такой фагоцитоз называют *иммунным*, так как он протекает при участии специфических антител и активированной системы комплемента, опсонизирующих микроорганизм. Это делает клетку высокочувствительной к захвату фагоцитами и приводит к последующей внутриклеточной гибели и деградации. В результате эндоцитоза образуется фагоцитарная вакуоль — *фагосома*.

Следует подчеркнуть, что эндоцитоз микроорганизмов в большой степени зависит от их патогенности. Лишь авирулентные или низковирулентные бактерии (бескапсульные штаммы пневмококка, штаммы стрептококка, лишенные гиалуроновой кислоты и М-протеина) фагоцитируются непосредственно. Большинство бактерий, наделенных факторами агрессивности (стафилококки — А-протеином, кишечные палочки — выраженным капсульным антигеном, сальмонеллы — Vi-антигеном, и др.), фагоцитируются только после их опсонизации комплементом и/или антителами.

4. Внутриклеточное переваривание начинается по мере поглощения бактерий или других объектов. Оно происходит в фаголизосомах, образующихся за счет слияния первичных лизосом с фагосомами. Захваченные фагоцитами микроорганизмы погибают в результате осуществления механизмов микробоцидности этих клеток. Различают кислородзависимые механизмы микробоцидности, связанные с «окислительным взрывом», и кислороднезависимые механизмы, опосредованные катионными белками и ферментами (в том числе лизоцимом), попадающими в фагосому в результате ее слияния с лизосомами.

Так называемый окислительный взрыв проявляется усилением потребления кислорода и глюкозы с одновременным выбросом биологически активных нестабильных продуктов восстановления кислорода: пероксида водорода H_2O_2, супероксиданионов O_2, гидроксильных радикалов OH^-. При этом нестабильные кислородные радикалы участвуют в микробоцидности фагоцитов.

Внутриклеточная участь захваченных фагоцитами микроорганизмов может быть различной в зависимости от их вирулентности и способности к внутриклеточному паразитизму. Авирулентные и низковирулентные бактерии погибают и перевариваются в фаголизосомах лизосомными гидролазами.

Незавершенный фагоцитоз. Многие вирулентные бактерии часто не погибают и могут длительно персистировать внутри фагоцитов.

Факультативно и облигатно внутриклеточные паразиты после эндоцитоза сохраняют жизнеспособность и размножаются внутри фагоцитов, вызывая их гибель и разрушение.

Выживание фагоцитированных микроорганизмов могут обеспечивать различные механизмы. Одни патогенные агенты способны препятствовать слиянию лизосом с фагосомами (токсоплазмы, микобактерии туберкулеза). Другие обладают устойчивостью к действию лизосомных ферментов (гонококки, стафилококки, стрептококки группы А и др.). Третьи после эндоцитоза покидают фагосому, избегая действия микробоцидных факторов, и могут длительно персистировать в цитоплазме фагоцитов (риккетсии и др.). В этих случаях фагоцитоз остается незавершенным.

Презентативная, или представляющая, функция макрофагов состоит в фиксации на наружной мембране антигенных эпитопов микроорганизмов. В таком виде они бывают представлены макрофагами для их специфического распознавания клетками иммунной системы — Т-лимфоцитами (*см. 13.2.2*).

Секреторная функция заключается в секреции фазоцитами биологически активных веществ — цитокинов. К ним относятся вещества, оказывающие регулирующее действие на пролиферацию, дифференциацию и функции фагоцитов, лимфоцитов, фибробластов и других клеток. Особое место среди них занимает интерлейкин-1 (ИЛ-1), который секретируется макрофагами. Он активирует многие функции Т-лимфоцитов, в том числе продукцию интерлейкина-2 (ИЛ-2). ИЛ-1 и ИЛ-2 являются клеточными медиаторами, участвующими в регуляции иммуногенеза и разных форм иммунного ответа. Одновременно ИЛ-1 обладает свойствами эндогенного пирогена, поскольку он индуцирует лихорадку, действуя на ядра переднего гипоталамуса.

Макрофаги продуцируют и секретируют такие важные регуляторные факторы, как простагландины, лейкотриены, циклические нуклеотиды с широким спектром биологической активности.

Наряду с этим фагоциты синтезируют и секретируют ряд продуктов с преимущественно эффекторной активностью: антибактериальной, антивирусной и цитотоксической. К ним относятся кислородные радикалы ($O_2^- - H_2O_2$), компоненты комплемента, лизоцим и другие лизосомные ферменты, интерферон. За счет этих факторов фагоциты могут убивать бактерии не только в фаголизосомах, но и вне клеток, в ближайшем микроокружении.

Этими секреторными продуктами может быть опосредовано также цитотоксическое действие фагоцитов на различные клетки-«мишени» в клеточно-опосредованных реакциях иммунитета, например в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ, *см. 18.2*), при отторжении гомотрансплантатов, в противоопухолевом иммунитете.

Рассмотренные функции фагоцитирующих клеток обеспечивают их активное участие в поддержании гомеостаза организма, в процессах воспаления и регенерации, в неспецифической противоинфекционной защите, а также в иммуногенезе и реакциях специфического клеточного иммунитета (ГЗТ). Раннее вовлечение фагоцитирующих клеток (сначала — гранулоцитов, затем — макрофагов) в ответную реакцию на любую инфекцию или какое-либо повреждение объясняется тем, что микроорганизмы, их компоненты, продукты некроза тканей, белки сыворотки крови, вещества, секретируемые другими клетками, являются хемоаттрактантами для фагоцитов. В очаге воспаления происходит активация функций фагоцитов. Макрофаги приходят на смену микрофагам. В тех случаях, когда воспалительной реакции с участием фагоцитов оказывается недостаточно для очищения организма от возбудителей, тогда секреторные продукты макрофагов обеспечивают вовлечение лимфоцитов и индукцию специфического иммунного ответа.

12.3.1.2. Естественные клетки-киллеры (ЕК)

В организме человека и животных функционирует популяция лимфоцитоподобных клеток, обладающих естественной цитотоксичностью по отношению к клеткам-«мишеням». Они получили название естественных киллеров (ЕК). ЕК являются клетками с эффекторной противоопухолевой, противовирусной и противопаразитарной активностью. Они способны спонтанно, без предварительного контакта с антигеном убивать опухолевые клетки, а также клетки, зараженные некоторыми вирусами или паразитами. По-видимому, основной функцией ЕК является противоопухолевый «надзор». Эта система неспецифической клеточной защиты, вероятно, является филогенетически более древней по сравнению со специфическими Т-клеточными механизмами иммунитета.

Морфологически ЕК представляют собой большие гранулосодержащие лимфоциты. Характерные для них азурофильные цитоплазматические гранулы являются аналогами лизосом фагоцитирующих клеток. Однако ЕК фагоцитарной функцией не обладают. Неспецифический характер их цитотоксического действия отличает эти клетки от антигенспецифических Т-киллеров и от К-клеток, опосредующих антителозависимую цитотоксичность (*см. главу 17*). Среди лейкоцитов крови человека ЕК составляют от 2 до 12%.

12.3.2. Гуморальные факторы

12.3.2.1. Лизоцим

Лизоцим представляет собой термостабильный белок типа муколитического фермента. Он содержится в тканевых жидкостях жи-

вотных и человека — в слезах, слюне, перитонеальной жидкости, плазме и сыворотке крови, в лейкоцитах, материнском молоке и др.

Лизоцим продуцируется моноцитами крови и тканевыми макрофагами. Он вызывает лизис многих сапрофитных бактерий, оказывая менее выраженное литическое действие на ряд патогенных микроорганизмов и не активен в отношении вирусов.

Механизм бактериолитического действия лизоцима состоит в гидролизе связей между М-ацетилмурамовой кислотой и N-ацетилглюкозамином в полисахаридных цепях пептидогликанового слоя клеточной стенки бактерии. Это приводит к изменению ее проницаемости, сопровождающемуся диффузией клеточного содержимого в окружающую среду, и гибели клеток.

Заживление ран в области слизистых оболочек, имеющих контакт с большим количеством различных микроорганизмов, в том числе и патогенных, в известной степени объясняется наличием лизоцима.

12.3.2.2. Система комплемента

Системой комплемента называют многокомпонентную самособирающуюся систему белков сыворотки крови, которая играет важную роль в поддержании гомеостаза. Она способна активироваться в процессе самосборки, т.е. последовательного присоединения к образующемуся комплексу отдельных белков, которые называются *компонентами*, или *фракциями комплемента*. Таких фракций известно девять. Они продуцируются клетками печени, мононуклеарными фагоцитами и содержатся в сыворотке крови в неактивном состоянии.

Процесс активации комплемента может запускаться (инициироваться) двумя разными путями, получившими названия *классический* и *альтернативный* (рис. 12.3).

При активации комплемента классическим путем инициирующим фактором является комплекс антиген–антитело (иммунный комплекс). Причем антитела только двух классов IgG и IgM в составе иммунных комплексов могут инициировать активацию комплемента благодаря наличию в структуре их Fc-фрагментов, связывающих Cl-фракцию комплемента. При присоединении C1 к комплексу антиген–антитело образуется фермент (Cl-эстераза), под действием которого формируется энзиматически активный комплекс (C4b, C2a), называемый C3-конвертазой. Данный фермент расщепляет C3 на C3a и C3b. При взаимодействии субфракции C3b с C4 и C2 образуется пептидаза, действующая на C5. Если инициирующий иммунный комплекс связан с клеточной мембраной, то самособирающийся комплекс C1, C4, C2, C3 обеспечивает фиксацию на ней активированной фракции C5, а затем C6 и C7. Последние три компонента совместно способствуют фиксации C8 и C9. При этом два набора фракций комплемента — C5a, C6, C7, C8 и C9 — составляют мемб-

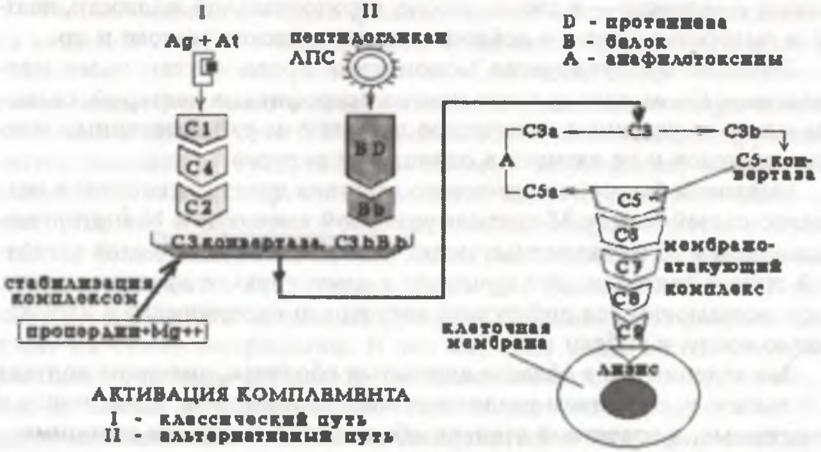


Рис. 12.3. Классический (I) и альтернативный (II) пути активации системы комплемента

раноатакующий комплекс, после присоединения которого к клеточной мембране клетка лизируется из-за необратимых повреждений структуры ее мембраны. В том случае, если активация комплемента по классическому пути происходит при участии иммунного комплекса эритроцит–антиэритроцитарный Ig, происходит гемолиз эритроцитов; если иммунный комплекс состоит из бактерии и антибактериального Ig, происходит лизис бактерий (бактериолизис).

Таким образом, при активации комплемента классическим путем ключевыми компонентами являются C1 и C3, продукт расщепления которого C3b активирует терминальные компоненты мембраноатакующего комплекса (C5–C9).

Существует возможность активации C3 с образованием C3b при участии C3-конвертазы альтернативного пути, т.е. минуя первые три компонента: C1, C4 и C2. Особенность альтернативного пути активации комплемента состоит в том, что инициация может происходить без участия комплекса антиген–антитело за счет полисахаридов и липополисахаридов бактериального происхождения — липополисахарида (ЛПС) клеточной стенки грамотрицательных бактерий, поверхностных структур вирусов, иммунных комплексов, включающих IgA и IgE.

В альтернативном пути активации комплемента необходимо участие сывороточного белка, названного пропердином, который активен лишь в присутствии ионов Mg^{2+} и требует участия еще двух сывороточных белков: факторов B и D. Фактор D в активной форме является протеиназой, расщепляющей фактор B с образованием фрагмента Bb. Последний способен в комплексе с C3b играть роль C3-

конвертазы альтернативного пути. Функция самого пропердина заключается в стабилизации комплекса C3b Bb.

Как видно из описанных каскадов реакций, многие компоненты комплемента при активации проявляют активность протеиназ или эстераз, работающих только внутри системы. При этом в процессе активации комплемента появляются продукты протеолиза компонентов C4, C2, C3 и C5. Одни из них (фрагменты C4b, C2b, C3b, C5b) участвуют непосредственно в самосборке и активации самой системы комплемента. В отличие от них низкомолекулярные фрагменты C3a и C5a, названные *анафилатоксинами*, по совокупности биологических эффектов — освобождение гистамина из тучных клеток, хемотаксис фагоцитов, нарушение проницаемости сосудов, сокращение гладких мышц и др. — играют существенную роль в патогенезе болезней иммунных комплексов (см. 18.2) и других заболеваний, при которых резко усиливаются связывание и активация комплемента в организме.

Фракции комплемента при их активации классическим или альтернативным путем выполняют ряд эффекторных функций:

1) мембраноатакующий комплекс опосредует цитолитическое и цитотоксическое действие специфических антител на клетки-«мишени»;

2) анафилотоксины участвуют в иммунопатологических реакциях;

3) компоненты комплемента изменяют физико-химические свойства иммунных комплексов; уменьшают степень агрегации и эффективность их фагоцитоза через Fc-рецепторы;

4) фрагмент C3b способствует связыванию и захвату иммунных комплексов фагоцитами, опсонизируя объекты фагоцитоза; фрагменты C3b, C5a и Bb, обладающие свойствами хемоаттрактантов, участвуют в развитии воспаления.

В здоровом организме идет довольно интенсивное потребление комплемента за счет постоянного формирования иммунных комплексов, например с антителами против антигенов бактериальной аутофлоры. Поэтому белки системы комплемента быстро обновляются, отличаясь высокой скоростью катаболизма. Потребление комплемента может резко возрастать при разных видах патологии, связанных с усиленным образованием иммунных комплексов при инфекциях и иммунопатологических состояниях.

12.3.2.3. Белки острой фазы

В ходе развития защитных воспалительных реакций после инфицирования или повреждения, а также при онкогенезе и беременности в организме начинается усиленная продукция белков острой фазы. Так назвали большую группу белков, обладающих антимикробным действием, способствующих фагоцитозу, активации комплемен-

та, формированию и ликвидации воспалительного очага. Белки острой фазы продуцируются в печени при действии цитокинов, в основном ИЛ-1, ФНО-а и ИЛ-6. Основную массу белков острой фазы составляют С-реактивный белок и сывороточные амилоиды А и Р. Другие группы белков острой фазы составляют факторы свертывания крови, металлосвязывающие белки, ингибиторы протеаз, компоненты комплемента и некоторые другие. При воспалении содержание в крови большинства белков многократно возрастает, и определение С-реактивного белка входит в число общепринятых методов диагностики воспалительных процессов.

С-реактивный белок получил название вследствие способности присоединять и преципитировать С-полисахарид Str. pneumoniae. Далее было установлено, что С-реактивный белок (СРБ) присоединяется к фосфатидилхолину — компоненту клеточной мембраны любых клеток. Он способен присоединяться к микроорганизмам, активированным лимфоцитам, поврежденным клеткам разных тканей, активируя при этом комплемент. Присоединяясь к нейтрофильным фагоцитам, СРБ усиливает фагоцитоз и элиминацию объектов фагоцитоза. Вместе с этим СРБ подавляет продукцию супероксида и освобождение из гранул фагоцитов ферментов, защищая тем самым ткани от повреждения.

Сывороточный амилоид Р близок по структуре к СРБ, обладает способностью к активации комплемента.

Сывороточный амилоид А — липопротеин, обладающий способностью к хематтракции нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов. Повышенный уровень этого белка в крови наблюдается при туберкулезе и ревматоидном артрите.

К факторам свертывания крови относятся фибриноген и фактор фон Виллебранда, способствующие образованию сгустков в сосудах зоны воспаления.

Другую группу белков острой фазы составляют белки, связывающие железо — гаптоглобин, гемопексин, трансферрин — и тем самым препятствующие размножению микроорганизмов, нуждающихся в этом элементе.

Уровень ингибиторов протеаз в крови возрастает при воспалении в 2–3 раза. Антитрипсин, антихимотрипсин и макроглобулин препятствуют разрушению тканей протеазами нейтрофилов в очагах воспаления.

12.3.2.4. Цитокины и интерфероны

Медиаторы межклеточных взаимодействий, именуемые цитокинами, определяют как реакции врожденного и приобретенного иммунитета, так и ряд других жизненно необходимых функций организма, значение которых выходит за рамки иммунологии.

Цитокинами называют гормоноподобные медиаторы, продуцируемые разными клетками организма и способные повлиять на функции других или этих же групп клеток. Цитокины — пептиды или гликопротеиды, действующие как аутокринные, паракринные или межсистемные сигналы. Цитокины формируются как активированными или поврежденными клетками, так и клетками без дополнительной стимуляции. Регуляторами продукции цитокинов могут быть другие цитокины, гормоны, простагландины, антигены и многие другие агенты, воздействующие на клетку. Некоторые закономерности цитокиновой регуляции могут быть сформулированы следующим образом:

1. Каждая клетка продуцирует разные цитокины.
2. Каждый цитокин может быть продуктом разных видов клеток.
3. Один цитокин обладает разными эффектами действия.
4. Цитокин может стимулировать или подавлять активность клетки-«мишени».
5. Каждая клетка имеет рецепторы к разным цитокинам и, следовательно, может подвергаться одновременному или разновременному воздействию нескольких цитокинов.
6. Взаимодействие нескольких цитокинов на клетку может быть синергичным или антагонистичным.
7. Рецепторы цитокинов могут отделяться от клетки и взаимодействовать с цитокинами вне клетки. В этих условиях свободные рецепторы связывают соответствующие цитокины, что препятствует их контакту с клеточными рецепторами.
8. Цитокины, их рецепторы на клетках и во внеклеточных средах составляют сложную функциональную сеть, результат действия которой зависит от взаимодействия этих факторов между собой и другими цитокинами.
9. Цитокины действуют в низких концентрациях порядка 0,001 мкг/мл. Для воздействия на клетку достаточно, чтобы цитокин связался с 10% клеточных рецепторов к нему.

Цитокины составляют обширный класс медиаторов различного происхождения, обладающих разными свойствами. Их классификация носит условный характер, так как многие их них обладают одновременно несколькими свойствами и могут быть отнесены к разным группам. Цитокины объединены в группы в зависимости от их происхождения (лимфокины, монокины), от характера эффекта (провоспалительные, противовоспалительные). Цитокины, регулирующие взаимодействия лейкоцитов между собой и другими клетками, называют интерлейкинами (ИЛ). Большинство цитокинов именуется по действию, которое было впервые обнаружено. Однако дальнейшие исследования раскрыли новые свойства многих из них. Так, например, «фактор некроза опухоли» превратился в группу цитокинов,

обладающих, как будет показано далее, способностью не только индуцировать гибель (апоптоз) опухолевых клеток, но и стимулировать активность нейтрофильных лейкоцитов, макрофагов и других клеток иммунной системы.

В табл. 12.2 представлены некоторые группы цитокинов.

Группа интерлейкинов включает 17 цитокинов, большинство из которых играет ключевую роль в развитии специфического иммунного ответа.

Продуцируемый макрофагами и моноцитами ИЛ-1 обуславливает пролиферацию лимфоцитов при индукции иммунного ответа, а также активирует Т-лимфоциты, увеличивает продукцию антител. ИЛ-1 действует на нейтрофилы, способствуя хемотаксису, активации метаболизма, выходу из клеток лизоцима и лактоферрина. Этот цитокин — эндогенный пироген, вызывающий лихорадку за счет воздействия на гипоталамический центр терморегуляции.

ИЛ-2 продуцируется Т-лимфоцитами (в основном Тх1), активированными антигеном, собственным ИЛ-2, другими интерлейкинами: ИЛ-1, ИЛ-6, интерфероном, фактором некроза опухоли (ФНО). Без ИЛ-2 позитивный иммунный ответ на антиген не возникает, стимулированный антигеном лимфоцит гибнет, что может привести к развитию толерантности к данному антигену. Интерлейкины ИЛ-4 и ИЛ-10 подавляют продукцию ИЛ-2. Это способствует развитию эффекторов гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), формированию киллеров из $CD8^+$ лимфоцитов, усилению действия ЕК. Все это стимулирует противоопухолевый иммунитет и позволяет рекомендовать рекомбинантный ИЛ-2 для лечения онкологических больных.

ИЛ-3 стимулирует пролиферацию стволовых и ранних предшественников гемопоэтических клеток. Он перспективен как радиопротекторное средство.

ИЛ-4, или фактор роста В-лимфоцитов, стимулирует антителообразование, продукцию IgE, активирует Тх2-лимфоциты, способствует формированию ИЛ-5 и ИЛ-10, подавляющих активность Тх1 и, следовательно, формирование клеточных реакций иммунитета.

ИЛ-5 близок по способности стимулировать гуморальный ответ к ИЛ-4. Он получил название «Т-замещающий фактор», так как способствует продукции антител без участия Тх.

ИЛ-5, как и ИЛ-4, способствует развитию аллергических реакций. ИЛ-4 усиливает продукцию IgE, а ИЛ-5 стимулирует предшественников эозинофилов и базофилы, клетки, реализующие эти реакции.

ИЛ-6 и ИЛ-7 активируют В-клетки и гуморальные формы иммунного ответа. ИЛ-6 используется как фактор роста гибридом в биотехнологии. Он также способствует дифференцировке Т-клеток в цитотоксические, активирует ЕК и кератиноциты.

ИЛ-8 — мощный провоспалительный фактор, индуктор острых и хронических воспалительных реакций.

ИЛ-9 — регулятор пролиферации Т-лимфоцитов. В этом ему подобны ИЛ-15 и ИЛ-16.

ИЛ-10 относится к противовоспалительным и иммуноподавляющим цитокинам. Он подавляет продукцию провоспалительных интерлейкинов ИЛ-2,

Таблица 12.2

Группы цитокинов

Группа	Цитокин	Основные продуценты	Основные мишени
ИНТЕР-ЛЕЙКИ-НЫ	ИЛ-1	Макрофаги, клетки Лангерганса	Тх2,В-лимфщциты, ЕК и др.
	ИЛ-2	Тх1, ЕК, клетки Лангерганса	Т-, В-лимфоциты и др.
	ИЛ-3	Т-лимфоциты	Стволовые и гематопоэтические клетки
	ИЛ-4	Тх2	Т-, В-лимфоциты, тучные клетки
	ИЛ-5	Тх 2	В- и Т-лимфоциты
	ИЛ-6	Фибробласты, Т-лимфоциты	В-лимфоциты, гепатоциты
	ИЛ-7	Строма костн. мозга	Незрелые лимфоциты
	ИЛ-8	Макрофаги	Т-лимфоциты, нейтрофилы
	ИЛ-9	Тх2	Т-лимфоциты
	ИЛ-10	Тх2, В-лимфоциты	Тх1
	ИЛ-11	Строма костн. мозга	В-лимфоциты, кариоциты
	ИЛ-12	Макрофаги, В-лимфоциты	Тх1, ЕК
	ИЛ-13	Тх2	В-лимфоциты
	ИЛ-14	Т-лимфоциты	В-лимфоциты
	ИЛ-15	Мононуклеары	Т-лимфоциты, ЕК
	ИЛ-16	CD8+ Т-лимфоциты	CD4+ Т-лимфоциты
	ИЛ-17	CD4+ Т-лимфоциты	Фибробласты
ФАКТОРЫ РОСТА	ГМ КСФ	Т-лимф., мононукл., и др.	Гематопоэтические клетки
	Г КСФ	Макроф. фибробл., и др.	Предшественники гранулоцитов
	М КСФ	Макроф. лимфоциты, и др.	Предш. моноц., стволовые клетки
	ИЛ-3	Т-лимфоциты	Стволовые и гематопоэтические клетки
	ТРФ β	Моноциты, Т-лимфоциты	Т-лимфоциты, макрофаги (подавление), фибробласты, нейтрофилы (стимуляция)
ИНТЕР-ФЕРОНЫ	Иф α	Мононукл. фагоциты	Клетки, инфицированные вирусами
	ИФ β	Фибробласты	Опухолевые клетки
	ИФ γ	Тх1-лимфоциты, ЕК	Мононукл. фагоциты, ЕК, Т-лимф.
ЦИТОТО-КСИНЫ	ФНО α	Макрофаги и др.	Гранулоциты, моноциты, опухоли
	ФНО β	Т-лимфоциты	Опухолевые клетки (подавление), нейтрофилы, макрофаги (активация)
	ЛТ	Т-лимфоциты	Нейтрофилы, ЕК

Сокращения: В — В-лимфоциты; ГМ КСФ — грануло-моноцитарный колониестимулирующий фактор; Г КСФ и М КСФ — гранулоцитарный и моноцитарный колониестимулирующие факторы; ЕК — естественные киллеры; ТРФ — трансформирующий фактор роста; ФНО — фактор некроза опухоли; ЛТ — лимфотоксин

ИЛ-4, ИЛ-5, γИФ и других, а также экспрессию МНС на антигенпредставляющих клетках и тем самым препятствует индукции иммунного ответа.

ИЛ-11 относится к стимуляторам гемо- и лимфопоэза через активацию стволовых клеток.

ИЛ-12 считается функциональным антагонистом ИЛ-10, он активирует Тх1 и ЕК.

ИЛ-13 по ряду эффектов близок к ИЛ-4, но не активирует Т-лимфоциты. Его мишенями являются моноциты, макрофаги, В-клетки и ЕК.

ИЛ-14 обеспечивает длительную пролиферацию активированных В-лимфоцитов, способствует формированию В-клеток памяти.

ИЛ-15 сходен по действию с ИЛ-2. Фактор роста Т-лимфоцитов и ЕК

ИЛ-16 секретируется $CD8^+$-лимфоцитами. Подавляет репликацию вирусов, в частности вируса иммунодефицита человека

ИЛ-17 способствует продукции ИЛ-6, ИЛ-8 и молекул адгезии ICAM.

Факторы роста — большая группа гликопротеинов, контролирующих пролиферацию и созревание потомков стволовой кроветворной клетки. Они продуцируются разными видами клеток и действуют на разные этапы их развития.

Колониестимулирующие факторы (КСФ) получили свое название благодаря тому, что было обнаружено их свойство способствовать дифференцировке введенных мышам клеток костного мозга в зрелые гранулоциты и/или моноциты с образованием в селезенке животных колоний соответствующих клеток. Гранулоцитарный КСФ обеспечивает дифференцировку предшественников гранулоцитов в зрелые нейтрофилы. Моноцитарный КСФ способствует созреванию моноцитов и макрофагов из клеток-предшественников, а гранулоцитарно-моноцитарный КСФ стимулирует формирование гранулоцитов и макрофагов из их общих предшественников. Этот интерлейкин усиливает эффективность фагоцитоза, экспрессию на макрофагах структур МНС II класса, активирует способность макрофагов разрушать клетки опухолей.

Трансформирующий ростовой фактор ТРФ-γ выполняет несколько функций, в основном действует как «анти-цитокин», подавляющий активность провоспалительных цитокинов. Он подавляет пролиферацию и функции иммуноцитов: подавляет действие цитотоксических Т-лимфоцитов, ЕК, продукцию иммуноглобулинов. ТРФ способствует толерантности к антигенам, поступающим в организм через рот, усиливает синтез коллагена, рост фибробластов, способствует ангиогенезу, усиливает продукцию IgA. ТРФ-α — фактор роста эпителиальных и мезенхимальных клеток. ТРФ-β содержится в клетках центральной нервной системы в бóльших количествах, чем в других тканях, способствуя устойчивости ткани мозга к воспалительным процессам. Продукция ТРФ опухолевыми клетками препятствует осуществлению противоопухолевого иммунитета.

Завершая рассмотрение цитокинов и их эффектов, необходимо подчеркнуть, что *в механизмах иммунитета участвуют две группы*

противоположно действующих цитокинов. Одна группа — провоспалительные цитокины (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8 и другие лимфокины, ФНО-α, а также ИФ), стимулируя разные клетки и механизмы, усиливают врожденную неспецифическую защиту, воспаление, способствуют развитию специфических иммунных реакций. Вторая функциональная группа — противовоспалительные цитокины (ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13, ТРФ) подавляет развитие как неспецифических, так и специфических иммунных реакций.

Интерфероны (ИФ) были открыты как противовирусные агенты. Затем были обнаружены их иммунорегулирующие свойства. Существует три разновидности ИФ: α, β, относимые к первому классу, и ИФ-γ, относимый к второму классу.

ИФ-α, продуцируемый лейкоцитами, обладает преимущественно противовирусным, антипролиферативным и противоопухолевым действием. ИФ-β, образуемый фибробластами, обладает преимущественно противоопухолевым, а также антивирусным действием. ИФ-γ — продукт Т-хелперных (Тх0 и Тх1) , а также $CD8^+$ Т-лимфоцитов — именуется лимфоцитарным и иммунным. Он обладает преимущественно иммуномодулирующим и слабым противовирусным эффектом.

Продукцию интерферонов I класса индуцируют вирусы и препараты двунитчатой ДНК, продукцию ИФ-γ — антигены и митогенные препараты. Противовирусный эффект ИФ обусловлен способностью активировать в клетках синтез ингибиторов и ферментов, блокирующих репликацию вирусной ДНК и РНК, что приводит к подавлению репродукции вируса. Таков же механизм антипролиферативного противоопухолевого действия ИФ.

ИФ-γ — полифункциональный иммуномодулирующий лимфокин, влияющий на рост и дифференцировку клеток разных типов. Он активирует макрофаги на этапе передачи антигенной информации лимфоциту, повышает их антимикробную и противоопухолевую активность, продукцию ИЛ-1. ИФ-γ воздействует на клетки-«мишени» иммунологических воздействий, активируя экспрессию антигенов главного комплекса тканевой совместимости, рецепторов лимфотоксина, обеспечивая повышение эффективности иммунологического воздействия.ИФ-γ активирует естественные киллеры, цитотоксические лимфоциты, подавляющие рост опухолей. Ряд эффектов ИФ-γ осуществляет совместно с другими цитокинами, в частности формирование миелоидных клеток из костномозговых предшественников, дифференцировку и активацию В-лимфоцитов, стимуляцию гуморального и клеточного иммунитета.

У здоровых людей ИФ в крови не обнаруживаются. Их уровень повышен при красной волчанке, ревматоидном артрите, склеродермии. Наличие интерферона в крови этих больных увеличивает резистентность к вирусным инфекциям и опухолям, но неблагоприятно

сказывается на развитии аутоиммунных процессов, свойственных этим заболеваниям.

Препараты интерферонов используются для лечения лейкемий и некоторых других онкологических процессов. Для усиления противовирусной защиты используют средства, повышающие продукцию собственного интерферона (интерфероногены). В качестве индукторов эндогенного интерферона применяют противовирусные вакцины, препараты РНК и ДНК.

Цитотоксины. Такое название получили цитокины группы факторов некроза опухолей (ФНО), который был впервые обнаружен как компонент сыворотки крови животных, стимулированных бактерийным токсином, вызывающий некротические процессы в опухолевой ткани. ФНО служит медиатором ответа организма на микробную инвазию. Эндотоксины (липиполисахариды) микробов стимулируют клетки-продуценты к образованию ФНО, который, в свою очередь, обеспечивает хемотаксис фагоцитов в инфицированную ткань и усиливает фагоцитоз возбудителей. В настоящее время известно, что ФНО составляют по крайней мере две группы (альфа и бета) медиаторов, продуцируемых активированными макрофагами, естественными киллерами, а также лимфоцитами, нейтрофилами и тучными клетками.

ФНО-α вызывает некроз опухолей и нарушает обменные процессы, что определило его название «кахектин», т.е. вызывающий кахексию. Этот эффект связан с угнетением синтеза основного фермента липогенеза в организме — липопротеинкиназы. ФНО-α обладает пирогенностью, активирует воспалительные клетки, стимулирует экспрессию на клетках структур комплекса МНС, молекул адгезии. Кроме того ФНО-α повышает активность антигенпредставляющих дендритных клеток и макрофагов, что в конечном счете активирует специфические клеточные иммунные реакции.

ФНО-β, продуцируемый преимущественно Т-лимфоцитами, обладает свойствами лимфотоксина, обуславливающего цитотоксическое действие лимфоцитов — эффекторов иммунологических реакций. Введение извне или выброс большого количества эндогенного ФНО вызывает картину септического шока с геморрагическими повреждениями, распадом тромбоцитов, освобождением медиаторов.

На поверхности большинства клеток организма содержатся или могут быть экспрессированы рецепторы ФНО, существующие в 12 вариантах. Как и рецепторы других цитокинов, рецепторы ФНО могут секретироваться во внутренние среды организма и принимать участие в регуляции эффектов ФНО.

Воздействие ФНО на опухоли обусловлено активностью как ФНО-α, так и ФНО-β: действием лимфотоксина, местным провоспалительным действием, активацией иммунной системы, нарушениями липидного обмена.

Адгезины. Среди факторов, определяющих прямые контакты клеток организма между собой и с представителями микрофлоры, существенную роль играют молекулы адгезии или адгезины. Предполагается, что в эволюции живого появление молекул адгезии сделало возможным возникновение многоклеточных организмов. Более 90% микробов, составляющих нормальную микрофлору человеческого организма, обитают в нем благодаря молекулам адгезии. Блокирование адгезии патогенных микроорганизмов к клеткам и тканям организма — один из основных путей антимикробной защиты. Молекулы адгезии экспрессируются на мембранах клеток, определяя их способность контактировать с другими клетками и неклеточными субстратами. Рецепторами молекул адгезии в организме могут быть другие молекулы адгезии на поверхности клеток, углеводные компоненты мембран, иммуноглобулины. Количество молекул адгезии и рецепторов к ним увеличивается при антигенной или любой другой активации клеток.

В ходе иммунного ответа молекулы адгезии определяют контакты антигенпредставляющих клеток с лимфоцитами и лимфоцитов между собой. Молекулы адгезии входят в состав рецепторов иммунокомпетентных клеток и определяют тропность клеток иммунной системы к определенным тканям или органам — хоминг-эффект (англ. *Home* — дом).

Молекулы адгезии условно разделяют на группы: селектины, интегрины, молекулы суперсемейства иммуноглобулинов.

Селектины — семейство поверхностных молекул адгезии, определяющие присоединение клеток к углеводным компонентам других структур. Ко всем представителям этой группы приготовлены моноклональные антитела, что позволило включить селектины в классификацию CD (*см. главу 13*). Все CD-антигены обозначаются порядковым номером CD-структуры с добавлением латинской буквы, обозначающей клетки, на которых они экспрессированы. Так, селектины CD62L, CD62E, CD62P находятся соответственно на лимфоцитах, эндотелиальных клетках, кровяных пластинках (тромбоцитах).

Интегрины — большая группа молекул, определяющая взаимодействия белок-белок. Это белковые димеры, состоящие из двух полипептидных цепей α и β, которые, как и селектины, включены в классификацию CD. Интегрины играют роль в межклеточных контактах при воспалении, реакциях иммунитета, аутоиммунных повреждениях тканей, процессах репарации. Интегрины экспрессируются на клетках опухолей и играют роль в процессах метастазирования. Их определение используется для диагностики разных видов злокачественных опухолей.

К молекулам суперсемейства иммуноглобулинов относится более 15 вариантов молекул, которые обозначаются заглавными латинскими буквами, соответствующими обозначению их функции: адгезии клетка-клетка или белок-белок. Например, ICAM-1, ICAM-2 (CD54, CD102) молекулы межклеточной адгезии экспрессируются на многих видах клеток (лейкоциты, клетки эндотелия) после их активации интерлейкинами.

Рецепторами этих молекул могут быть молекулы интегринов. К молекулам адгезии суперсемейства иммуноглобулинов относятся CD4, CD8 — молекулы Т-лимфоцитов, определяющие их контакты со структурами MHC II или I класса и дифференцировку этих двух классов Т-клеток между собой.

Адгезины формально не относятся к системе цитокинов, но обладают многими сходными с ними функциями и участвуют в межклеточной кооперации.

Цитокиновая регуляция, как и другие регуляторные процессы в организме, осуществляется по принципу «стимуляция — подавление» или «включение — выключение». Так, одна группа цитокинов — ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, интерфероны — способствует включению и усилению воспалительных процессов, другая — ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13 и др. — относится к противовоспалительным цитокинам. В настоящее время готовятся лекарственные препараты цитокинов, имеются возможности определения эндогенных цитокинов, что открывает перспективы практического использования учения о цитокинах.

12.3.2.5. Белки теплового шока

При воздействии на микробные и эукариотические клетки неблагоприятных стрессовых факторов — повышенной температуры, голодания, токсинов, тяжелых металлов, вирусов, в них формируются защитные белки. Они получили название белков *теплового шока* (heat shock proteins-HSP), так как они были впервые обнаружены при тепловом воздействии на клетки. Содержание HSP в E. coli повышается после стресса с 1,5% до 15% всех белков клетки. В результате повышаются термоустойчивость и резистентность клеток за счет защиты и коррекции поврежденных стрессом клеточных белков. Существует три группы бактериальных HSP, обозначенных в соответствии с их молекулярной массой HSP90, HSP70, HSP60. HSP60 — доминантный антиген микобактерий, легионелл, трепонем и другими возбудителями, высокоиммуногенными для млекопитающих. Он процессируется антигенпредставляющими клетками и распознается Т-лимфоцитами. Иммунный ответ против HSP может быть существенным компонентом антимикробной защиты организма.

Продукция HSP человека контролируется генами МНС III класса, находящимися рядом с генами, контролирующими образование цитокинов (факторы некроза опухоли). Помимо поддержания резистентности клеток к шоковым воздействиям HSP принимают участие в эндоцитозе вирусных частиц, процессинге антигенов, входят в состав некоторых рецепторных комплексов (стероидные рецепторы). Предполагается, что антигенное сходство микробных HSP с HSP человека способствует развитию аутоиммунных реакций. Антитела против HSP обнаружены в сыворотках крови больных ревматоидным артритом, анкилозирующим спондилитом, системной красной волчанкой.

Вопросы для самоконтроля

1. В чем состоят преимущества и недостатки механизмов неспецифической резистентности?

2. Почему нормальная микрофлора включена в число компонентов естественного иммунитета?

3. В чем сходство и различия двух основных путей активации комплемента?

4. Как осуществляется фагоцитоз?

5. Как можно оценить активность фагоцитоза и действия естественных киллеров в организме?

6. Назовите три белка острой фазы и объясните их роль в естественном иммунитете.

7. Дайте определение понятия «цитокины» и приведите примеры их иммунорегуляторного и прямого защитного действия.

8. Что представляет собой группа интерферонов? Назовите три основные разновидности, их роль в противовирусном иммунитете, противоопухолевой защите, регуляции иммунных функций организма.

ГЛАВА 13

ОРГАНЫ И КЛЕТКИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Иммунная система представляет собой иерархическое единство органов, свободных клеток и молекул, имеющих общее происхождение и функционирующих как единое целое (рис. 13.1).

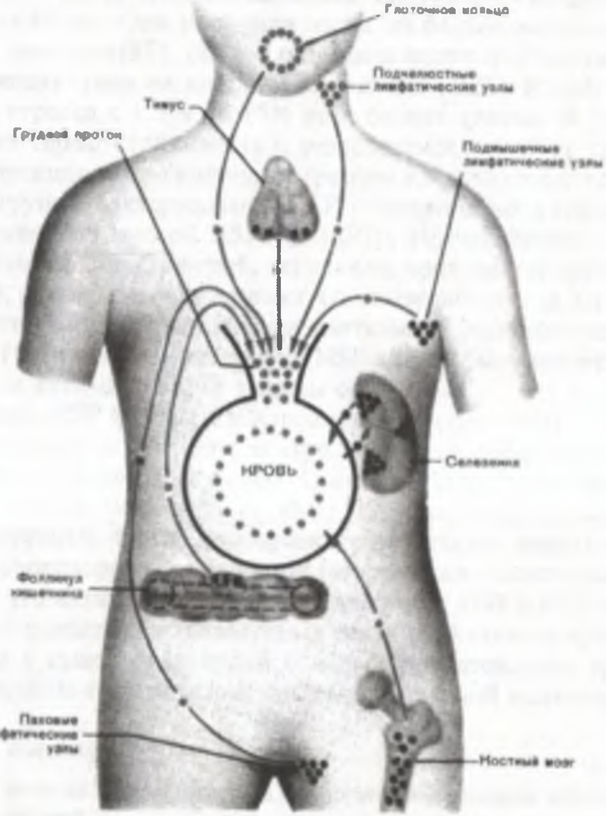


Рис. 13.1. Иммунная система организма

С х е м а 13.1. Созревание клеток лимфоидно-миелоидного комплекса

Клетки, осуществляющие иммунологические функции, имеют общее происхождение, — они являются производными полипотентной стволовой кроветворной клетки (схема 13.1). Стволовые кроветворные клетки — самоподдерживающаяся популяция мезенхимных клеток костного мозга. Они составляют менее 0,01% всех клеток костного мозга, но их роль исключительно велика: они являются родоначальниками всех клеток крови и клеток иммунной системы.

Стволовые клетки полиморфны. 80–90% из них находится в Go фазе клеточного цикла, т.е. в состоянии покоя. Это обеспечивает относительную устойчивость популяции и широкие возможности мобилизации клеток для их дифференцировки. 10–20% стволовых клеток находятся в разных фазах деления. В результате митоза из них формируется два вида дочерних клеток. Одни сохраняют свойства ро-

дительских, оставаясь в популяции недифференцированных стволовых кроветворных клеток.

Другие дочерние клетки дифференцируются в клетки-предшественники лимфоцитов или миелоцитов. Первые в дальнейшем превращаются в В- или Т-лимфоциты, вторые дают начало гранулоцитам, макрофагам, эритроцитам и тромбоцитам. Направление и интенсивность дифференцировки клеток регулируются гуморальными факторами — цитокинами, гормонами, гормоноподобными веществами, что обеспечивает потребность организма в тех или иных клетках. В ходе дифференцировки клетки покидают костный мозг, распределяются по органам и тканям и лишь часть из них завершают дифференцировку на месте.

13.1. ЦЕНТРАЛЬНЫЕ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИЕ ОРГАНЫ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Центральными органами иммунной системы называют органы, где происходит формирование и созревание иммуноцитов. К ним относят костный мозг, вилочковую железу (тимус) и сумку Фабрициуса у птиц. Периферические органы иммунной системы содержат зрелые лимфоциты. Здесь после антигенного воздействия происходит их дальнейшая пролиферация и дифференцировка, продуцируются антитела и эффекторные лимфоциты. К периферическим органам относятся селезенка, лимфатические узлы, скопления лимфоидной ткани под слизистыми поверхностями желудочно-кишечного, дыхательного, мочеполового трактов (групповые лимфатические фолликулы, тонзиллы, пейеровы бляшки).

Тимус, или **вилочковая железа**, — лимфоэпителиальный орган. Он состоит из долек, каждая из которых содержит корковый и мозговой слой. Клетки-предшественники тимоцитов формируются в костном мозге и через кровь попадают в кору тимуса. Основным элементом коры являются фолликулы Кларка, в которых вокруг приводящего кровеносного сосуда концентрируются эпителиальные и дендритные клетки, макрофаги и лимфоциты. Клетки и их гуморальные продукты (цитокины, гормоны) стимулируют деление незрелых лимфоцитов, поступивших в кору. В процессе деления они созревают. На их поверхности появляются новые структуры, а некоторые стадиоспецифические структуры утрачиваются. Структуры, определяющие особенности клеток иммунной системы, обладают антигенными свойствами. Они получили название «Cluster of differentiation» (показатель дифференцировки) и обозначение CD. Лимфоциты, созревающие в тимусе, — Т-лимфоциты обладают характерными для них молекулами CD2, определяющими их адгезивные свойства и молекулами CD3, являю-

щимися рецепторами для антигенов. В тимусе Т-лимфоциты дифференцируются на две субпопуляции, содержащие антигены CD4 либо CD8. Лимфоциты CD4 обладают свойствами клеток-помощников — хелперов (Тх), лимфоциты CD8 — цитотоксическими свойствами, а также супрессорным эффектом, заключающимся в их способности подавлять активность других клеток иммунной системы.

За одни сутки в тимусе образуется 300–500 млн. лимфоцитов. При этом на клетках формируются рецепторы как к чужеродным, так и к собственным антигенам. В ходе созревания Т-лимфоциты проходят позитивную селекцию — отбор клеток, обладающих рецепторами для молекул главного комплекса тканевой совместимости (MHC), обеспечивающих возможность последующих контактов Т-лимфоцитов с клетками, представляющими им чужеродный антиген. В корковом слое тимуса происходит и негативная селекция: клетки с рецепторами для собственных антигенов, вступающие в контакт с ними погибают. В результате в мозговой слой тимуса поступает 3–5% клеток сформировавшихся в корковом слое. Это лимфоциты с рецепторами к чужеродным антигенам способны впоследствии после контакта с соответствующим антигеном реализовать специфическую иммунную реакцию. В мозговом слое дифференцировка лимфоцитов завершается формированием $CD4^+$- и $CD8^+$-лимфоцитов. Созревание клеток в тимусе длится 4–6 сут., после чего лимфоциты поступают в кровь, лимфу, ткани, во вторичные органы иммунной системы.

Эпителиальные клетки тимуса образуют пептидные гормоны и гормоноподобные пептиды: тимулин, α- и β-тимозин, тимопоэтин, способствующие созреванию и дифференцировке Т-лимфоцитов в тимусе и вне него. Выделение этих гормонов и создание их синтетических аналогов производится для создания лекарственных средств, регулирующих иммунологические функции.

Тимус начинает функционировать у шестинедельного эмбриона человека, к рождению его масса достигает 10–15 г, к началу полового созревания — 30–40 г. Далее происходит постепенная инволюция тимуса с утратой до 3% активной ткани ежегодно.

Инволюция тимуса сопровождается снижением продукции Т-лимфоцитов. Их уровень в организме поддерживается за счет долгоживущих клеток, внетимусного созревания части клеток под действием цитокинов. Предполагают, что последствия инволюции тимуса входят в число причин старческой патологии и определяют продолжительность жизни человека.

Костный мозг, общая масса которого у человека достигает 3 кг, выполняет несколько иммунологических функций. Как уже упоминалось, костный мозг служит местом происхождения всех клеток иммунной системы. Здесь же происходит созревание и дифференцировка В-лимфоцитов. Костный мозг функционирует и как вторичный

орган иммунной системы. Макрофаги костного мозга обладают фагоцитарной активностью, а В-лимфоциты дифференцируются в плазматические клетки, которые продуцируют антитела.

Направления дифференцировки стволовых клеток костного мозга определяются клетками стромы костного мозга, макрофагальными клетками, лимфоцитами и образуемыми ими цитокинами. Клетки костного мозга продуцируют гормоноподобный пептидный фактор, способствующий активации В-лимфоцитов.

Лимфатические узлы — скопления лимфоидной ткани, расположенные по ходу лимфатических и кровеносных сосудов. У человека имеется 500–1000 лимфатических узлов, а также более мелкие скопления лимфоидной ткани под слизистыми поверхностями и в коже. Лимфатические узлы обеспечивают неспецифическую резистентность организма, выполняя функции барьеров и фильтров, удаляющих из лимфы и крови чужеродные частицы. Вместе с тем лимфатические узлы служат местом формирования антител и клеток, осуществляющих клеточные иммунные реакции.

Кожа, эпителиальные и паренхиматозные органы содержат многочисленные лимфатические капилляры, собирающие тканевую жидкость, именуемую *лимфой*. Лимфа поступает далее в лимфатические сосуды, по ходу которых последовательно располагается множество лимфатических узлов, строма которых служит фильтром, удаляющим из лимфы практически все чужеродные частицы, в том числе и вирусы, и до 2% растворимых антигенных молекул. В лимфоузлах иммунного организма задерживаются практически все водорастворимые антигены.

Лимфатический узел покрыт соединительнотканной капсулой, от которой внутрь узла отходят трабекулы, разделяющие его на доли, в которых содержится корковое и мозговое вещество, а между ними лежит паракортикальный слой. Основной структурой коркового вещества являются скопления лимфоидных фолликулов, содержащих лимфоциты, преимущественно В-группы, дендритные клетки и макрофаги. *Лимфоидные фолликулы* могут быть первичными и вторичными. Первичные фолликулы преобладают в покоющемся лимфоузле, содержащиеся в них клетки малоактивны, митозы встречаются редко. В случаях формирования реакции на антиген первичные фолликулы превращаются во вторичные фолликулы, называемые также зародышевыми центрами.

В-лимфоциты, находившиеся в первичном фолликуле, в ответ на поступивший в узел антиген активируются с помощью Т-клеток, начинают быстро делиться и дифференцироваться в антителообразующие клетки — зрелые лимфоциты и плазматические клетки, а также клетки иммунологической памяти, обеспечивающие быстрый ответ на новое поступление антигена. Часть антителообразующих лимфо-

цитов перемещается в мозговой слой лимфоузла, в другие лимфоузлы, где продолжают продуцировать антитела. Пространство между фолликулами коркового слоя и паракортикальные зоны мозгового слоя заполнены преимущественно Т-лимфоцитами, из которых при иммунной реакции формируются цитотоксические и другие эффекторные лимфоциты, осуществляющие клеточные реакции иммунной защиты. В мозговом слое лимфатического узла содержится большое количество макрофагов, осуществляющих фагоцитоз поступающих в лимфоузел микроорганизмов и других чужеродных частиц.

Функции периферических органов иммунной системы выполняют также лимфоидные структуры глоточного кольца, кишечника, мочеполовых органов, кожи, бронхов и легких. Структуры, обеспечивающие защиту слизистых, получили название — *лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми* — MALT (*Mucosa-associated lymphoid tissue*). В состав MALT входят GALT, BALT — лимфоидные ткани, ассоциированные с кишечником, с бронхолегочной системой. К ним примыкают лимфоидные структуры кожи-SALT (*Skin associated lymphoid tissue*). Клеточные структуры этих лимфоидных образований, а также лимфоциты, находящиеся в тканях, имеют то же происхождение, что и структуры других периферических органов иммунной системы. Вместе с тем системы защиты покровов и связанных с ними образований (молочная железа, печень и др.) обладают особенностями, главная из которых состоит в продукции секреторных иммуноглобулинов класса А и Е, которые поступают на поверхность слизистых и в секреты — молозиво и молоко, желчь, слюну, семенную жидкость. Механизмы клеточной защиты покровов связаны главным образом с цитотоксическими лимфоцитами, имеющими гамма/дельта рецепторы. Лимфоциты кожи и слизистых обладают сродством к этим тканям и, перемещаясь по организму, обеспечивают солидарную защиту всей системы. Так, например, В-лимфоциты после стимуляции микробными антигенами в кишечнике перемещаются в молочную железу, превращаются в плазматические клетки и продуцируют там антитела, поступающие в молозиво и молоко, которые защищают от инфекции вскармливаемого ими ребенка. Иммунизация человека через рот может обеспечить образование антител и защиту всех слизистых оболочек от возбудителей инфекций.

Селезенка, как и другие периферические органы иммунной системы, принимает участие в обеспечении неспецифической резистентности, играя роль фильтра, удаляющего из циркуляции чужеродные частицы и собственные поврежденные или отжившие свой срок клетки крови. Вместе с тем селезенка входит в число основных органов иммуногенеза и образования антител, особенно выраженного в тех случаях, когда антиген поступает с током крови непосредственно в селезенку, которая по строению сходна с лимфатическими узлами. От

покрывающей орган капсулы отходят трабекулы, составляющие каркас органа. Селезенка содержит белую пульпу — аналог коры лимфоузлов, заполненную в основном лимфоидными клетками, и красную пульпу, где преобладают эритроциты и макрофаги. В белой пульпе и пограничной зоне между белой и красной пульпой имеются Т-зависимые зоны, где сосредоточены преимущественно Т-лимфоциты, и Т-независимые зоны или зародышевые центры, содержащие преимущественно В-лимфоциты.

Удаление селезенки (травма, лечение анемий) снижает способность организма к продукции антител, но не влияет на Т-зависимые формы иммунного ответа, продукцию иммуноглобулинов, процессы фагоцитоза. Функции селезенки дублируются другими органами иммунной системы.

13.2. КЛЕТКИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Клетки иммунной системы (иммуноциты) могут быть разделены на три группы:

1. Иммунокомпетентные клетки, способные к специфическому ответу на действие антигенов. Этими свойствами обладают исключительно лимфоциты, каждый из которых изначально обладает рецепторами для какого-либо антигена.

2. Вспомогательные (антиген-представляющие) клетки, способные отличать собственные антигены от чужеродных и представлять их иммунокомпетентным клеткам, без чего невозможен иммунный ответ на большинство чужеродных антигенов

3. Клетки антиген-неспецифической защиты, отличающие компоненты собственного организма от чужеродных частиц, в первую очередь от микроорганизмов, и уничтожающих последние путем фагоцитоза или цитотоксического воздействия.

13.2.1. Иммунокомпетентные клетки

Лимфоциты. Лимфоциты, как и другие клетки иммунной системы, являются производными полипотентной стволовой клетки костного мозга. В результате пролиферации и дифференцировки стволовых клеток формируются две основные группы лимфоцитов, именуемые В- и Т-лимфоцитами, которые морфологически не отличимы друг от друга (рис. 13.2 и 13.3). В ходе дифференцировки лимфоциты приобретают рецепторный аппарат, определяющий их способность взаимодействовать с другими клетками организма и отвечать на антигенные воздействия, формировать клоны клеток — потомков, реализующих конечный эффект иммунологической реакции (образование антител или цитолитических лимфоцитов).

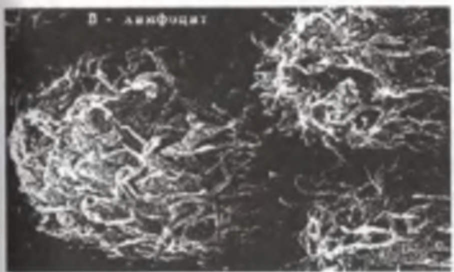


Рис. 13.2. В-лимфоцит. ЭМ

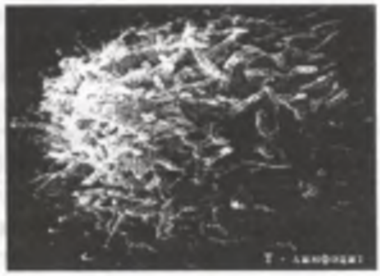


Рис. 13.3. Т-лимфоцит. ЭМ

Таблица 13.1

Этапы созревания и дифференцировки Т-лимфоцитов

Направление	⇒	⇒	⇒	⇒	⇒	⊗
Этапы созревания	Стволовая клетка	Пре- Т-лимфоцит	Незрелый Т-лимфоцит	Зрелый Т-лимфоцит	Активированный Т-лимфоцит	Эффекторная клетка
Функция	Предок всех клеток	Предок Т-клеток	Толерогенез	Ожидание антигена	Начало клеточной реакции	Клеточная реакция
Местонахождение	Костный мозг	Тимус	Тимус	Периферические органы	Органы и ткани	Органы и ткани
Роль антигена	Роли не играет	Роли не играет	Толероген	Иммуноген	Иммуноген	Мишень
Рецепторы для антигена	Отсутствуют	Отсутствуют	ТКР для всех антигенов	ТКР для чужеродных антигенов	ТКР для чужеродных антигенов	ТКР для чужеродных антигенов

Обозначение: ТКР — мембранный Т-клеточный рецептор

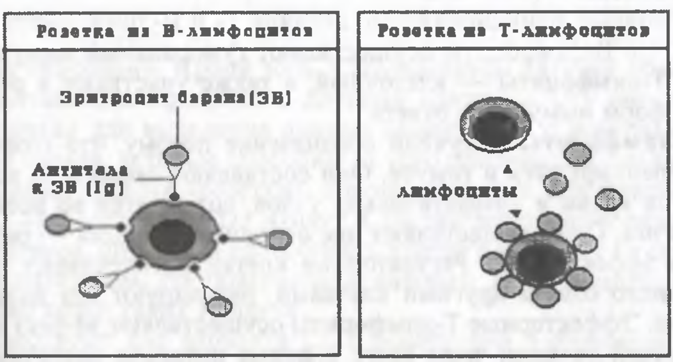


Рис. 13.4. Розетки Т- и В-лимфоцитов

Созревание и дифференцировка лимфоцитов (табл. 13.1 и 13.4) проходят в два этапа. Первый этап — развитие от стволовой клетки до зрелого лимфоцита, способного вступать в контакт с антигеном, называемого *антиген-реактивной* клеткой (АРК). Созревание лимфоцита на этом этапе не зависит от воздействия антигена, рецепторы к которому формируются только при завершении созревания. Второй этап осуществляется в том случае, если лимфоцит вступил в контакт с антигеном, рецепторами для которого он обладает. Антиген индуцирует в АРК цепь внутриклеточных событий, начинающихся с активации внутриклеточной протеинкиназы и мобилизации из митохондрий в цитозоль внутриклеточного Ca_2^+. Действие протеинкиназы и Ca_2^+ разнонаправленно: протеинкиназа индуцирует дальнейшую пролиферацию клетки, деление, формирование клона, Ca_2^+ — тормозит или прекращает этот процесс, активирует эндонуклеазы лимфоцита, разрушающие ДНК и приводящие клетки к апоптозу (физиологической гибели). В зрелых лимфоцитах второй механизм, способствующий развитию иммунологической толерантности, репрессирован и происходит дальнейшее развитие клеток, обуславливающих формирование позитивного иммунного ответа.

Морфологически лимфоцит — клетка шаровидной формы с большим ядром и узким слоем базофильной цитоплазмы. В процессе дифференцировки последовательно формируются большие, средние и малые лимфоциты. В лимфе и периферической крови большинство составляют наиболее зрелые малые лимфоциты, которые обладают амебоидной подвижностью. Они постоянно перемещаются с током лимфы или крови, накапливаясь в лимфоидных органах и тканях, где осуществляются иммунологические реакции. Две основные популяции лимфоцитов Т- и В-клетки при световой микроскопии не различаются, но четко дифференцируются по поверхностным структурам и функциональным свойствам. Их сравнительные характеристики представлены в табл. 13.2.

Основные функциональные отличия Т- и В-лимфоцитов состоят в том, что В-лимфоциты осуществляют гуморальный иммунный ответ, а Т-лимфоциты — клеточный, а также участвуют в регуляции обеих форм иммунного ответа.

Т-лимфоциты получили обозначение потому, что созревают и дифференцируются в тимусе. Они составляют около 80% всех лимфоцитов крови и лимфатических узлов, содержатся во всех тканях организма. Они осуществляют две основные функции — регуляторную и эффекторную. Регуляторные клетки обеспечивают развитие иммунного ответа другими клетками, регулируют его дальнейшее течение. Эффекторные Т-лимфоциты осуществляют эффект иммунологической реакции чаще всего в форме цитолиза клеточных стуктур, к антигенам которых возникла иммунологическая реакция.

Таблица 13.2

Сравнительная характеристика Т- и В-лимфоцитов

	Лимфоциты	
	Т-лимфоциты	**В-лимфоциты**
Происхождение	Костный мозг	Костный мозг
Созревание	Тимус	Костный мозг
Содержание в крови	65–80 %	10–15 %
Рецептор для антигена	Протеиновый гетеродимер, ассоциированный с CD3, CD4, CD8	Молекула иммуноглобулина
Митогены, стимулирующие клетки	Фитогемагглютинин, конканавалин А, анти-Т-антитела	Липополисахариды, антиглобулиновые антитела
Участие в гуморальном ответе: индукция антител продукция антител	 – и + –	 + +
Участие в клеточных реакциях	+	–
Клетки памяти	Т-лимфоциты памяти	В-лимфоциты памяти
CD-антигены	CD-2, 3, 4 или 8, 5, 7, 28	CD-19, 21, 22, 23, 24, 37

Все Т-лимфоциты обладают поверхностными молекулами CD2 и CD3, определяющими ряд функций этих клеток и служащими маркерами для выявления их с помощью моноклональных антител или другими способами. Кроме того, CD2-молекулы адгезии обуславливают контакт Т-лимфоцитов с другими клетками. Эту способность использовали для выявления данных лимфоцитов с помощью эритроцитов барана, которые способны in vitro прилипать к поверхности лимфоцитов, образуя «розетки», хорошо видимые при микроскопии (рис. 13.4). Молекулы CD3 входят в состав рецепторов лимфоцита для антигенов, определяя способность клеток к контакту со специфическим антигеном. На поверхности каждого Т-лимфоцита имеется несколько сотен таких молекул.

Существуют два варианта CD3 рецепторов Т-лимфоцитов для антигенов: α/β (альфа/бета) и γ/δ (гамма/дельта). Лимфоциты с рецепторами α/β составляют не менее 90% всех лимфоцитов человека.

Они содержатся в большей концентрации в крови, лимфоузлах, селезенке, обладают широким диапазоном специфичности, позволяющим распознавать любые антигены, а также выраженной хелперной и цитотоксической активностью.

γ/δ-лимфоциты содержатся в кишечном эпителии, брюшине, репродуктивных органах, коже. Они способны распознать меньшее число антигенов, чем α/β-лимфоциты, не имеют CD4-антигена, обладают цитотоксическими свойствами и более, чем в половине случаев относятся к $CD8^+$ клеткам. Поскольку эти лимфоциты содержатся в коже и слизистых структурах они относятся к компонентам первой линии защиты организма от патогенов. Несмотря на сравнительно ограниченную возможности антигенного распознавания, γ/δ-лимфоциты быстро реагируют на углеводные компоненты микроорганизмов, стрессовые белки, образуют γ-интерферон, активирующий макрофаги и обладающий противовирусными свойствами. γ/δ-лимфоциты кишечника способствуют толерантности организма к антигенам, содержащимся в пище.

Как уже было отмечено, созревающие в тимусе Т-лимфоциты дифференцируются на две популяции, маркерами которых служат поверхностные антигены CD4 и CD8. Первые составляют более половины всех лимфоцитов крови и через продуцируемые лимфокины стимулируют другие клетки иммунной системы. Поэтому их назвали клетками-*хелперами* (англ. *Help* — помощь), которые относятся к основным клеткам иммунной системы, осуществляющих иммунные реакции. Без их помощи не может реализоваться большинство функций В-лимфоцитов.

Иммунологические функции $CD4^+$-лимфоцитов начинаются с представления им антигена антигенпредставляющими клетками (АПК). Представление состоит в том, что АПК, распознавшая антиген как чужеродный субстрат, входит в контакт с лимфоцитом. Рецепторы последнего воспринимают антиген только в том случае, если одновременно на поверхности АПК находится и собственный антиген этой клетки (рис. 13.5). Таким антигеном для стимуляции $CD4^+$-

Рис. 13.5. «Двойное» распознавание рецептором (R) Т-лимфоцита (Т) антигена (Ag), ассоциированного с белком гистосовместимости класса II (Ia) на поверхности макрофага

Таблица 13.3

Сравнительная характеристика лимфоцитов Тх1 и Тх2

Т-лимфоциты	Тх1	Тх2
Индуцирующие антигены	Антигены внутриклеточных микроорганизмов (микобактерии, листерии, вирусы)	Аллергены, антигены гельминтов, белковые антигены
Антигенпредставляющие клетки	Дендритные клетки, макрофаги	В-лимфоциты, макрофаги, дендритные клетки
Способствующие факторы	ИЛ-12, CD80	ИЛ-1, CD86
Образуемые цитокины	ИЛ-2, ИЛ-12, γ ИФ, α-ФНО	ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-13
Формируемые реакции	Клеточные реакции, противовирусный иммунитет, аутоиммунные реакции	Гуморальный иммунитет, аллергические реакции, иммунитет против паразитов
Подавляемые реакции	Гуморальные реакции	Клеточные реакции

Обозначение: ИФ — интерферон; ФНО — фактор некроза опухолей

лимфоцита должен быть антиген главного комплекса тканевой совместимости (МНС) II класса. Такое «двойное распознавание» служит дополнительной гарантией, что лимфоцит не будет активирован одним из собственных антигенов организма, что может привести к развитию аутоиммунной реакции.

Лимфоциты-хелперы (Тх, $CD4^+$) после воздействия антигена пролиферируют и разделяются на две субпопуляции: Тх1 и Тх2 (табл. 13.3). Образование Тх1 стимулируют преимущественно антигены внутриклеточных паразитов (микобактерии, листерии). Дифференцировке Т-хелперов в Тх2 способствуют аллергены, антигены гельминтов. Большинство белковых антигенов стимулируют образование клеток обеих субпопуляций — Тх1 и Тх2. Формированию Тх1 способствуют также интерлейкин ИЛ-12 и гликопротеин CD80, образуемый активированными макрофагами. Формированию Тх2 способствуют ИЛ-1 и гликопротеин CD86, образуемый антигенпредставляющими В-лимфоцитами.

Основные отличия субпопуляций состоят в спектре продуцируемых ими интерлейкинов (см. табл. 13.3). Интерлейкины, продуцируемые Тх1, обуславливают формирование преимущественно клеточных иммунных реакций и воспаления. Интерлейкины — продукты Тх2

лимфоцитов способствуют формированию гуморальных форм иммунного ответа. Поскольку интерлейкины могут обладать антагонистическим действием, Тх1-лимфоциты и их продукты оказывают супрессорное действие на реакции, связанные с активностью Тх2, и наоборот, Тх2-лимфоциты подавляют реакции, связанные с Тх1-клетками. Этим объясняется давно известный антагонизм клеточных и гуморальных иммунологических реакций, причем стимуляция и подавление разных форм иммунного ответа могут быть связаны с балансом активности двух групп Т-лимфоцитов. В крови и лимфоидных органах содержатся лимфоциты-хелперы, обозначаемые Тх0. Они формируются на первых этапах воздействия антигена на $CD4^+$-лимфоциты. Тх0 продуцируют лимфокины, присущие как Тх1, так и Тх2-клеткам, а далее дифференцируются в Тх1 либо в Тх2-лимфоциты.

В ходе пролиферации Тх1 и Тх2-лимфоцитов часть из них формирует клетки иммунологической памяти, которые длительно сохраняются в организме обеспечивая быстрый и сильный ответ на повторное действие антигена. Тх1-лимфоциты могут дифференцироваться в эффекторные цитотоксические клетки, реализующие реакции клеточного иммунитета.

$CD8^+$-лимфоциты — основные клетки, оказывающие цитотоксическое действие. Они составляют 22–24% всех лимфоцитов крови и их соотношение с $CD4^+$-лимфоцитами равны 1:1,9–1:2,4. Обе эти разновидности Т-лимфоцитов дифференцируются из общих предшественников в мозговом слое тимуса и обладают одинаковыми рецепторами для антигенов, с той лишь разницей, что рецептор $CD4^+$-лимфоцита воспринимает антиген от представляющей клетки в комплексе с антигеном МНС II класса, а рецептор $CD8^+$-лимфоцита — в комплексе с антигеном МНС I класса. Поскольку антигены МНС (главного комплекса тканевой совместимости) II класса имеются лишь на АПК, а антигены I класса практически на всех клетках, $CD8^+$-лимфоциты вступают во взаимодействие с любыми клетками организма. Основной функцией $CD8^+$-лимфоцитов является цитотоксичность, вследствие чего они играют ведущую роль в противовирусном, противоопухолевом и трансплантационном иммунитете. Вместе с тем $CD8^+$-лимфоциты могут играть роль супрессорных клеток, подавляющих активность других клеток иммунной системы. Однако в последнее время установлено, что супрессорный эффект свойствен многим видам клеток. Поэтому $CD8^+$-клетки перестали называть супрессорными клетками, и они получили название *цитотоксических*, несмотря на то, что цитотоксическими свойствами могут обладать и $CD4^+$-лимфоциты. Цитотоксические свойства $CD8^+$-лимфоциты приобретают в ходе дифференцировки после контакта с антигеном. Этому способствует интерлейкин ИЛ-2, секретируемый Тх1-лимфоцитами. В результате активации синтеза ДНК и митозов формируется две

вида $CD8^+$-лимфоцитов — клетки памяти и цитотоксические лимфоциты (ЦТЛ). Цитотоксическое действие начинается с контакта ЦТЛ с клеткой-«мишенью» и последующего поступления в мембрану клетки белков — перфоринов или цитолизинов. Перфорины полимеризуются и создают в наружной мембране клетки-«мишени» отверстия диаметром 5–16 нм, через которые проникают ферменты группы сериновых эстераз, называемые *гранзимами*. Гранзимы и другие ферменты лимфоцита наносят клетке-«мишени» «летальный удар», вызывая гибель путем апоптоза. Апоптоз возникает вследствие того, что гранзимы вызывают резкий подъем внутриклеточного уровня Ca_2^+, активацию внутриклеточных эндонуклеаз и разрушение ДНК клетки. Лимфоцит после этого сохраняет способность индуцировать гибель других клеток.

Существует и другой механизм деструкции клеток, обусловленный возможностью контакта гликопротеина CD95 (APO-1), находящегося на поверхности многих клеток организма, с трансмембранным белком, CD95L, экспрессированным на активированных $CD8^+$-лимфоцитах. Этот белок, близкий по структуре и действию к лимфотоксину, вызывает апоптоз клеток-«мишеней». Механизм апоптоза через контакт лимфоцита с белком CD95 на поверхности клеток-«мишеней» характерен для нормального функционирования иммунной системы и негативной селекции потенциально-аутореактивных клеток.

К цитотоксическим лимфоцитам по происхождению и функциям близки **естественные киллеры** (ЕК), которые имеют общих предков-предшественников с Т-лимфоцитами. Однако ЕК не попадают в тимус и не подвергаются дифференцировке и селекции. Эти лимфоциты не имеют рецепторов для антигенов и поэтому не участвуют в специфических реакциях приобретенного иммунитета. ЕК относятся к системе естественного иммунитета и разрушают в организме любые клетки, зараженные вирусами, а также опухолевые клетки. В отличие от цитотоксических Т-лимфоцитов, формирующихся и проявляющих свое действие в организме только после антигенной стимуляции, ЕК всегда готовы к контакту с мишенями и цитотоксическому действию. Механизмы их цитотоксического действия сходны с действием Т-цитотоксических лимфоцитов, индуцирующих апоптоз клеток-«мишеней» посредством перфоринов, гранзимов и других активных субстратов. Для лабораторного выявления ЕК по функциональной активности применяют цитотоксический тест с использованием в качестве мишеней клеток перевиваемой линии K562. Маркерами ЕК человека служат поверхностные антигены CD56, CD16. Кроме того, ЕК обладают антигеном CD2, свойственным большинству клеток лимфоидного ряда и определяющим адгезивные свойства клеток. ЕК обладают рецепторами ко многим цитокинам, которые могут стимулировать их активность (ИЛ-12) либо подавлять ее (ИЛ-10). Мно-

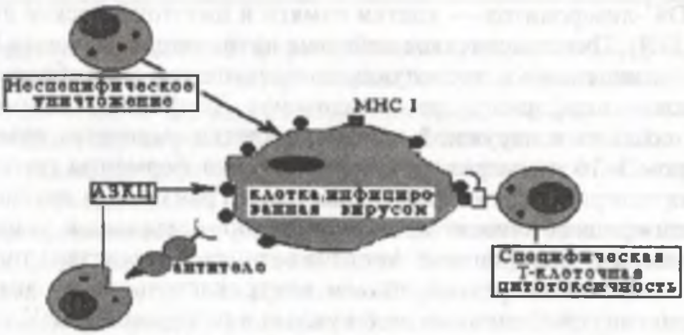


Рис. 13.6. Механизм действия цитотоксических клеток.
Уничтожение инфицированных вирусом клеток. Неспецифический разрушительный механизм нормальных киллеров (NK) способен сфокусироваться на мишени с помощью антитела, при этом возникает антителозависимая клеточная цитотоксичность (АЗКЦ). Цитотоксические Т-лимфоциты (Тк) прикрепляются к мишени в результате специфического узнавания поверхностного антигена, связанного с молекулами МНС класса 1, и убивают клетку

гие микроорганизмы индуцируют продукцию ИЛ-12 мононуклеарными клетками крови и тем самым активируют защитные функции ЕК. Сами ЕК продуцируют цитокины, активирующие другие клетки иммунной системы, повышая общий уровень защитных реакций.

Мембранный белок CD16, обладающий свойствами рецептора для иммуноглобулина G, определяет участие ЕК в реакциях антителозависимой клеточной цитотоксичности (рис. 13.6).

Антитела к возбудителям инфекции, антигенам трансплантатов и антигенам собственных клеток обеспечивают контакт ЕК, сорбировавших эти антитела с клетками, обладающими соответствующими антигенами. В этих случаях ЕК участвуют в осуществлении специфических иммунных реакций.

В-лимфоциты составляют вторую основную популяцию лимфоцитов. Эти клетки составляют 10–15% лимфоцитов крови, 20–25% клеток лимфатических узлов. В-лимфоциты выполняют в организме две роли: обеспечивают продукцию антител и участвуют в представлении антигенов Т-лимфоцитам.

В-лимфоциты обладают поверхностными рецепторами для антигенов, представляющих собой молекулы иммуноглобулинов, чаще всего классов D и M, фиксированные на их наружной мембране. На поверхности одного В-лимфоцита находится 200–500 тыс. молекул одинаковой специфичности. Отделившиеся от В-лимфоцита иммуноглобулиновые рецепторы циркулируют в организме как свободные антитела.

Как показано на рис. 13.7 и табл. 13.4, В-лимфоцит происходит от стволовой кроветворной клетки, проходит созревание в костном

Таблица 13.4

Этапы созревания и дифференцировки В-лимфоцитов

Направление	⇒	⇒	⇒	⇒	⇒	⊗
Этапы созревания	Стволовая клетка	Пре- В-лимфоцит	Незрелая В-клетка	Зрелый В-лимфоцит	Активированный В-лимфоцит	Плазматическая клетка
Местонахождение	Костный мозг	Костный мозг	Костный мозг	Периферия	Периферия	Периферия
Функция	Предок всех клеток	Предок В-клеток	Толерогенез	Ожидание антигена	Антителогенез (начало)	Антителогенез
Роль антигена	Роли не играет	Роли не играет	Толероген	Иммуноген	Иммуноген	Формирование ИК
Иммуноглобулины	Отсутствуют	В цитоплазме цепи μ	Мембранный IgM	Мембранные IgM, IgD	Ограниченная секреция	Большая секреция всех Ig
Обозначение: ИК — иммунные комплексы антиген-антитело						

Примечание: I. Иммуноглобулины отсутствуют.
II. Формирование тяжелых цепей IgM в цитоплазме.
III. Мембранные IgM-рецепторы.
IV. Мембранные IgM и IgD-рецепторы.
V. Мембранные рецепторы и начало продукции Ig разных классов
VI. Продукция больших количеств иммуноглобулинов разных классов. Мембранные рецепторы для антигена отсутствуют.

Рис. 13.7. Созревание В-лимфоцитов, их рецепторов и свободных иммуноглобулиновых молекул

мозге, где на его поверхности формируются иммуноглобулиновые рецепторы для антигенов. На каждом лимфоците формируются рецепторы только для одного антигена. Созревающий лимфоцит покидает костный мозг и становится антиген-реактивной клеткой, т.е. клеткой, способной к взаимодействию с одним из многочисленных антигенов, существующих в природе. В отличие от Т-лимфоцита, который может взаимодействовать с антигеном только после его представления антиген-представляющей клеткой, В-лимфоцит вступает в контакт с антигеном напрямую, без посредников. Контакт с антигеном может служить стимулом для пролиферации и дифференцировки В-лимфоцита с последующим формированием клона однородных клеток-потомков, конечной стадией развития которых являются плазматические клетки, оптимально адаптированные к продукции больших количеств антител. Эволюция В-лимфоцита после контакта с антигеном может идти *Т-зависимым* либо *Т-независимым путем*.

Т-зависимый путь, характерный для ответа на большинство антигенов, осуществляется с помощью цитокинов, продуцируемых Т-хелперными лимфоцитами ($CD4^+$). При воздействии антигена одновременно с В-лимфоцитами активируются и Т-хелперы (Тх). Тх продуцируют ИЛ-2, стимулирующий пролиферацию В-лимфоцитов и их первое деление.

ИЛ-2 и другие Т-клеточные цитокины — ИЛ-4, ИЛ-5 способствуют дальнейшему развитию В-популяции вплоть до формирования конечных плазматических клеток — продуцентов основной массы иммуноглобулинов. Одновременно формируются В-лимфоциты памяти, обеспечивающие быстрый и сильный ответ на повторное воздействие антигена. В ходе продукции иммуноглобулинов цитокины способствуют переключению синтеза иммуноглобулинов с IgM, характерных для ранних этапов гуморального ответа, на другие классы. ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-2, γИФ способствуют переключению синтеза Ig на IgG, ИЛ-5, β-ТГФ — на IgA, ИЛ-4 — на IgE.

Второй путь формирования иммунного ответа В-лимфоцитами, Т-независимый, осуществляется без помощи Т-лимфоцитов и индуцируется некоторыми (*см. главу 14*) небелковыми, в том числе микробными, антигенами. Т-независимые антигены обладают митогенным действием и способствуют формированию клона клеток продуцирующих IgM антитела. Т-независимый путь иммунноro ответа более примитивен и менее эффективен, так как не сопровождается формированием иммунологической памяти и при нем не происходит переключение синтеза антител с IgM на другие классы иммуноглобулинов.

Плазматическая клетка — результат конечной дифференциации В-лимфоцита — относится к короткоживущим клеткам. Плазмациты не имеют на наружной мембране рецепторов для антигена. Они —

конечный продукт дифференцировки В-лимфоцитов. Интенсивность синтеза иммуноглобулинов одной плазматической клеткой достигает 1 млн. молекул в час. После завершения фазы активной продукции антител плазмациты прекращают свое существование.

Длительная продукция умеренных количеств антител, наблюдаемая после иммунизации или инфекционного заболевания, осуществляется одной из разновидностей В-лимфоцитов памяти. Они формируются в ходе иммунного ответа на антиген, составляют около 1% всех В-лимфоцитов, отличаются долголетием и способностью быстро отвечать на повторное поступление антигена. В-лимфоциты памяти не имеют морфологических отличий от других В-лимфоцитов, но обладают активным геном (bcl-2). Продукты этого гена обеспечивают устойчивость клеток к апоптозу, и они сохраняются в организме в течение многих лет. В-клетки памяти рециркулируют между кровью, лимфой и лимфоидными органами, но более всего накапливаются в периферических лимфоидных органах.

Антигенпредставляющие функции В-клеток рассматриваются в следующем разделе.

13.2.2. Антигенпредставляющие клетки (АПК)

Начальным этапом Т-клеточного иммунного ответа является представление антигена Т-лимфоцитам. Антигенный рецептор $CD4^{+}$Т-хелпера воспринимает антиген в комплексе с продуктом гена МНС II класса, который должен находиться на поверхности АПК. Следовательно, роль АПК может играть любая клетка организма, обладающая антигеном МНС II класса и способностью сорбировать на своей поверхности чужеродный антиген. В организме человека антигенами МНС II класса обладают немногие клетки: макрофаги, дендритные клетки, В-лимфоциты, а также клетки Лангерганса и кератиноциты кожи, эндотелиальные клетки сосудов и гломерул почек. Макрофаги, дендритные клетки и В-лимфоциты называют профессиональными АПК, так как они более мобильны, активны и выполняют основной объем функций представления антигенов.

АПК имеет на наружной мембране до $2 \cdot 10^5$ молекул МНС II класса. Для активации одного Т-лимфоцита достаточно 200–300 таких молекул, находящихся в комплексе с антигеном.

Макрофаги — клетки системы мононуклеарных фагоцитов (см. рис. 12.1 и 12.2) происходят от монобластов костного мозга, которые дифференцируются в моноциты крови (рис. 13.8). Моноциты, составляющие около 5% лейкоцитов крови, находятся в циркуляции около 1 сут., а затем поступают в ткани, формируя популяцию тканевых макрофагов, количество которых в 25 больше, чем моноцитов. К ним относятся купферовские клетки печени, микро-

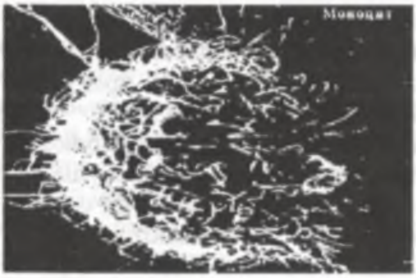


Рис. 13.8. Моноцит. ЭМ

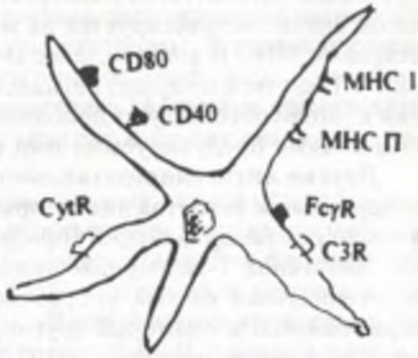
глия центральной нервной системы, остеокласты костной ткани, макрофаги легочных альвеол, кожи и других тканей. Много макрофагов во всех органах иммунной системы. Тканевые макрофаги — клетки с округлым или почковидным ядром имеют диаметр 40–50 мкм. Цитоплазма содержит лизосомы с набором гидролитических ферментов, обеспечивающих переваривание любых органических веществ и выделение бактерицидного аниона кислорода. Макрофаги функционируют как фагоциты, которые рассматриваются в 12.3. Они продуцируют растворимые вещества, регулирующие другие клетки иммунной системы, из которых наиболее изучен ИЛ-1, активирующий лимфоциты. На мембране макрофага экспрессированы структуры, обеспечивающие способность отличать чужеродные субстраты от собственных. Маркер макрофага — белок CD14 служит рецептором липополисахаридов бактерий. Макрофаг обладает пектиноподобными молекулами, соединяющимися с маннозными и фруктозными компонентами поверхности большинства микроорганизмов, что обеспечивает их контакты, лежащие в основе фагоцитоза.

Участие макрофага в иммунном ответе состоит в том, что эта клетка фагоцитирует антиген-содержащие частицы, дезинтегрирует их, превращая белки в антигенные пептидные фрагменты. Последние в комплексе с собственными антигенами MHC II класса макрофаг передает Т-лимфоциту при прямом контакте с ним.

При этом макрофаг продуцирует лимфокин ИЛ-1, который вызывает пролиферацию лимфоцитов, вступивших в контакт с антигеном, что обеспечивает формирование клона этих клеток, осуществляющих развитие иммунологической реакции на антиген.

Дендритные клетки составляют вторую группу АПК. Они близки к макрофагам, но не обладают фагоцитирующими свойствами. Это способствует сохранности поглощенных антигенов, которые могут быть полностью разрушены в ходе фагоцитоза. Дендритные клетки содержатся в крови, лимфе и во всех других тканях. Дендритные клетки эпителиальных тканей называют *клетками Лангерганса*, в лимфатических узлах и селезенке они составляют около 1% всех клеток. Эти отростчатые мононуклеарные клетки в разных тканях имеют неодинаковую форму и даже названия, однако все они обладают молекулами MHC II класса и способностью фиксировать антигены с формированием комплекса антиген-продукт MHC, представляемого Т-лим-

Рис. 13.9. Дендритная клетка: рецепторы и поверхностные молекулы:
FcγR (CD64) — рецептор к IgG;
C3R (CD84) — рецептор к комплементу;
CytR — рецепторы для цитокинов;
CD80 — ко-стимулятор Т-лимфоцитов (лиганд для CD28);
CD40 — ко-стимулятор Т-лимфоцитов (лиганд для CD40L);
МНС I — молекула, представляющая антиген CD8 Т-лимфоциту;
МНС II — молекула, представляющая антиген CD4 Т-лимфоциту



фоцитам (рис. 13.9). Дендритные клетки значительно более активны, чем макрофаги и В-клетки в индукции первичного иммунного ответа: в отличие от других АПК дендритные клетки могут представлять антиген покоящимся Т-лимфоцитам. Захват антигена дендритными клетками чаще всего происходит вне лимфоидных органов. После этого они мигрируют в лимфоидные образования, где происходит их контакт с Т-лимфоцитами и развитие дальнейших событий иммунного ответа. Этому способствуют стимулирующие воздействия на лимфоцит через контакт молекул В7-1 и ИЛ-2, экспрессированных на поверхности дендритных клеток, с молекулами CD40, находящимися на поверхности Т-лимфоцита. Дендритные клетки, как и большинство других клеток человека, обладают антигеном МНС I класса, необходимого для представления антигена $CD8^+$ цитотоксическому Т-лимфоциту. Поэтому они являются также инициаторами цитотоксических реакций.

В-лимфоциты как антигенпредставляющие клетки (АПК). Как уже указывалось, В-лимфоциты обуславливают формирование иммуноглобулинов и действуют как АПК. Особенности В-лимфоцитов как АПК состоят в том, что эти клетки вступают в контакт с антигеном через свои специфические рецепторы. Следовательно, в представлении антигена участвуют не все В-лимфоциты, а только те, которые обладают рецепторами к данному антигену. Поступивший в организм антиген распределяется среди относительно небольшого числа высокочувствительных к нему АПК. Вследствие этого для индукции иммунного ответа требуется в 10 тыс. раз меньше антигена, чем при его представлении другими видами АПК. Поэтому при небольших количествах антигена В-лимфоциты являются монопольными АПК. Процесс присоединения антигена к В-лимфоциту длится несколько ми-

нут, после чего антиген подвергается эндоцитозу, а через несколько часов вновь экспрессируется на мембране клетки в комплексе с молекулами MHC II класса. Далее В-лимфоцит вступает в прямой контакт с Т-клеткой и служит сигналом ее активации. Контакту и активации клеток способствуют дополнительные молекулы на их поверхности, а также продуцируемые ими цитокины.

Другие антигенпредставляющие клетки. Помимо макрофагов, дендритных и В-клеток для которых представление антигенов входит в число основных функций (профессиональные АПК), в представлении антигенов Т-хелперным лимфоцитам могут принимать участие эндотелиальные клетки, фибробласты, астроциты, клетки микроглии, кератиноциты и некоторые другие, которые при активации способны экспрессировать молекулы MHC II класса и цитокины, активирующие Т-лимфоциты. Так, например, кератиноциты кожи способны воспринять антиген, продуцировать ИЛ-1 и после стимуляции интерфероном экспрессировать молекулы MHC II класса. Контакт этих клеток с Т-лимфоцитами и их стимуляция — элементы патогенеза контактного дерматита, псориаза.

Представление антигена $CD8^{+}$(цитотоксическим) лимфоцитам осуществляется через формирование антиген-представляющей клеткой комплекса антигена с белком MHC I класса. Таким белком обладают практически все ядерные клетки организма, что значительно расширяет возможности активации цитотоксических реакций ,играющих основную роль в противовирусном, противоопухолевом и трансплантационном иммунитете.

13.2.3. Клетки антиген-неспецифической резистентности

В осуществлении иммунной защиты организма принимают участие клетки, которые не распознают антигены как лимфоциты и не представляют их лимфоцитам, как антигенпредставляющие клетки. Это клетки группы гранулоцитов, которые обладают способностью отличать клетки собственного организма от чужеродных, подвергать последние фагоцитозу и индуцировать воспалительные реакции. Такие же свойства присущи моноцитам, макрофагам и их производным — клеткам, участвующим как в реакциях естественного иммунитета, так и в индукции специфического иммунного ответа в качестве АПК. Факторы и механизмы неспецифической противоинфекционной защиты организма рассматриваются в разделе 12.3. Вместе с тем механизмы неспецифической и специфической защиты организма тесно связаны между собой. Неспецифическая реакция организма на чужеродные факторы нередко служит началом специфического процесса, который является второй линией защиты от инфекции. Нейтрофильные, базофильные, эозинофильные лейкоциты, а

также макрофаги продуцируют цитокины, регулирующие активность лимфоцитов и сами находятся под их контролем. В очагах неспецифического воспаления всегда присутствуют лимфоциты, способные здесь же формировать зоны иммуногенеза. Активные гранулоциты всегда содержатся в зародышевых центрах и других тканях, формирующих иммунный ответ.

Помимо фагоцитарных функций, которые клетки осуществляют автономно, гранулоциты являются непременным участником цитотоксических реакций, формируемых Т-лимфоцитами. Все фагоциты обладают рецепторами CD16, CD32, CD64, посредством которых к ним присоединяются иммуноглобулины. «Вооруженные» антителами фагоциты приобретают специфическую способность атаковать клетки и структуры, обладающие соответствующим антигеном. Так «неспецифические» гранулоциты принимают участие в реализации специфических реакций. Такой феномен получил название «*антителозависимая клеточная цитотоксичность*» (АЗКЦТ) (см. рис. 13.6).

Поглощая и разрушая значительную часть антиген-содержащих частиц, фагоциты снижают количество антигена в организме, что может ослабить развитие иммунного ответа на него.

Эозинофильные лейкоциты обладают цитоплазматическими гранулами, содержащими основной белок, окрашивающийся in vitro такими кислыми красителями как эозин, за что и получили свое название. Основной белок и катионный белок, находящиеся в гранулах, обладают высокой ферментной активностью и более токсичны для фагоцитированных гельминтов, чем ферментные системы нейтрофилов. Поэтому эозинофилы обеспечивают наиболее эффективный фагоцитоз гельминтов. Эозинофилы обладают поверхностными рецепторами к IgE, поэтому они участвуют в реакциях АЗКЦТ, опосредуемых антителами класса IgE, и являются одним из источников повреждения не только чужеродных, но и собственных клеток организма при аллергических процессах. Формирование и активность эозинофильных лейкоцитов в организме контролируется Т-хелперными клетками (Тх2) через ИЛ-4, ИЛ-5 и другие цитокины, которые одновременно стимулируют продукцию IgE — основного фактора развития аллергических реакций немедленного типа (*см. главу 18*).

Базофильные лейкоциты составляют около 0,5% всех лейкоцитов крови. Их тканевые аналоги — тучные клетки содержатся в большом количестве в соединительной ткани сосудов, кожи, слизистых. В коже содержится около 7000 тучных клеток на 1 мкг ткани, в кишечнике — 20000. В цитоплазме базофилов и тучных клеток имеется до 100–500 гранул, содержащих гистамин, гепарин, серотонин и другие медиаторы, которые выходя из клетки оказывают повреждающее действие как на микроорганизмы, так и на собственные окружающие клетки, способствуя развитию анафилактической реакции (*см. главу 18.2*).

Кровяные пластинки, или тромбоциты, содержатся в крови в пределах 200–400 тыс. на 1 $мм^3$. Эти клетки относятся к системе свертывания крови и играют существенную роль в воспалительных реакциях, регулируют циркуляцию клеток, фиксацию иммунных комплексов в тканях. Тромбоциты содержат медиаторы аллергических реакций, прямо способствующие развитию аллергического воспаления.

Несмотря на большое разнообразие, система клеток и органов иммунной системы функционирует как единое целое на основе единства и функционального программирования всех ее элементов, межклеточной кооперации, механизмов обратной связи, а также антигеннеспецифической регуляции всей системы цитокинами, гормональными и метаболическими механизмами.

13.3. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ (КООПЕРАЦИЯ) КЛЕТОК ПРИ РАЗНЫХ ФОРМАХ ИММУННОГО ОТВЕТА

Как следует из вышеизложенного, Т-лимфоциты реализуют клеточные формы иммунного ответа, В-лимфоциты обуславливают гуморальный ответ. Однако обе формы иммунологических реакций не могут состояться баз участия вспомогательных клеток, которые в дополнение к сигналу, получаемому антигенреактивными клетками от антигена, формируют второй, неспецифический, сигнал, без которого Т-лимфоцит не воспринимает антигенное воздействие, а В-лимфоцит не способен к пролиферации.

Клеточное взаимодействие при возникновении Т-клеточного иммунного ответа состоит в том, что антиген может воздействовать на клетку только после его представления антиген-представляющей клеткой (АПК). АПК производит предварительный отбор антигена, вступая вo взаимодействие только с чужеродными антигенными субстратами, исключая тем самым возможность действия на лимфоцит собственных антигенов организма. Антиген сорбируется на поверхности АПК, затем подвергается эндоцитозу, в результате чего антиген фрагментируется и формирует комплекс с собственным белком клетки — продуктом гена MHC, антигеном главного комплекса тканевой совместимости (*см. главу 14*).

Комплекс антиген — белок MHC экспрессируется на поверхности АПК и становится доступным к контакту с рецептором Т-лимфоцита. Контакт осуществляется при прямом взаимодействии клеток либо передаче комплекса через межклеточную среду. Как показано на рис. 13.5, рецептор Т-лимфоцита построен так, что воспринимает одновременно оба компонента комплекса. Воздействие на Т-клетку антигенного комплекса служит сигналом активации внутриклеточных процессов, продукции клеткой цитокинов и экспрессии на ней цито-

киновых рецепторов. Основой внутриклеточных событий служит активация протеинкиназы С, обуславливающей стимуляцию генома клетки, начало пролиферации и дальнейшей дифференцировки с формированием клона клеток одинаковой специфичности, составляющих основу дальнейшего развития иммунного ответа. Одновременно с формированием протеинкиназы в цитозоле происходит повышение уровня свободного Ca_2^+, активирующего эндонуклеазы клетки, что может привести к апоптозу — гибели клетки. Баланс этих антагонистических процессов определяет альтернативу возникновения позитивного иммунного ответа или толерантности.

Цитокины ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-4, продуцируемые АПК и лимфоцитами, способствуют активации протеинкиназы и связанных с ней процессов пролиферации клеток. Другая группа цитокинов — γ-интерферон, простагландин Е, ИЛ-6 (продукты Т-лимфоцитов, мононуклеарных и других клеток) — способствует развитию апоптоза. В зрелых лимфоцитах взрослого организма приоритетна первая группа реакций, в организме плода — преобладают процессы развития апоптоза в аутореактивных лимфоцитах, что обеспечивает формирование толерантности к собственным антигенам.

Т-лимфоциты-хелперы ($CD4^+$) и цитотоксические Т-лимфоциты ($CD8^+$) отличаются по строению рецепторов, воспринимающих комплексы антиген-белок МНС. В первом случае комплекс должен содержать белок МНС II класса, представляемый только некоторыми видами АПК-дендритными и В-клетками и макрофагами. Для симуляции $CD8^+$ лимфоцитов необходим белок МНС I класса, которым обладают все ядерные клетки организма и, следовательно, круг АРК для этих лимфоцитов существенно расширен. В ходе дальнейшей пролиферации и дифференцировки активированных Т-лимфоцитов формируются регуляторные клетки (хелперы, цитотоксические и супрессорные), долгоживущие клетки памяти и эффекторные клетки, которые обладают выраженной цитотоксической способностью. В случае повторного поступления антигена его представление происходит так же, как и при первичном воздействии, но попадает уже на клетки иммунологической памяти, число которых больше, чем число АРК в организме, впервые встречающегося с антигеном. Эти клетки уже прошли ранние стадии созревания и дифференцировки и готовы к быстрому формированию эффекторных цитотоксических клеток.

Формирование гуморального ответа определяется кооперацией В-лимфоцитов с другими клетками иммунной системы и в первую очередь с Т-лимфоцитами-хелперами, в стимуляции которых принимают участие и сами В-лимфоциты. В правой части рис. 13.10 показан процесс активации В-лимфоцита, который функционирует как АПК и как предшественник антителообразующих клеток. В-лимфоцит воспринимает антиген путем прямого контакта рецепторов с ан-

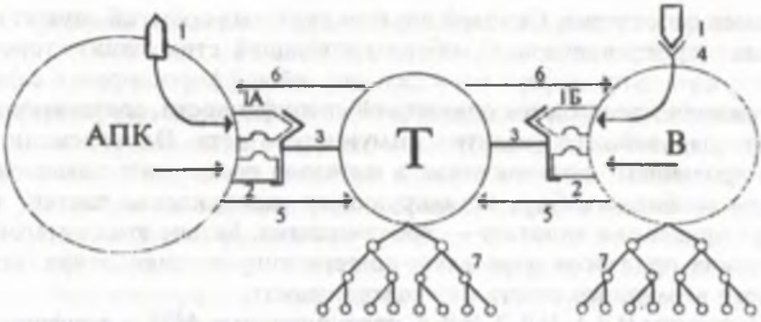


Рис. 13.10. Межклеточные кооперации при развитии клеточного и гуморального иммунного ответа:
1 — антиген; 1А — фрагмент антигена (эпитоп), представляемый Т-лимфоциту АПК (макрофагом или дендритной клеткой); 1Б — фрагмент антигена (эпитоп), представляемый Т-лимфоциту В-лимфоцитом, играющим роль АПК; 2 — белок антигенпредставляющей клетки (гистопоп) — антиген МНС II класса; 3 — рецептор Т-лимфоцита (паратоп), воспринимающий двойной сигнал от АПК; 4 — рецептор В-лимфоцита (паратоп), взаимодействующий с антигеном; 5 — цитокины, активирующие Т-лимфоцит; 6 — цитокины, активирующие АПК и В-лимфоцит; 7 — последующая пролиферация и дифференцировка лимфоцитов, стимулированных антигеном с формированием клона клеток-потомков;
АПК — антигенпредставляющая клетка;
Т — Т-лимфоцит; В — В-лимфоцит

тигеном. Антиген проходит тот же путь, что и в любой другой АПК: подвергается эндоцитозу, фрагментируется и экспрессируется на поверхности В-клетки в комплексе с белком МНС II класса. Этот комплекс воспринимается рецептором Т-лимфоцита и служит сигналом развития Т-клеточного ответа, так же как после стимуляции через другие АПК. Одновременно Т-лимфоциты начинают функционировать как хелперы, продуцируя лимфокины (ИЛ-2, -4, -5), обеспечивающие способность В-клетки, поглотившей антиген, пролиферировать и дать начало клону антителообразующих клеток, продуцирующих Ig (Т-зависимый ответ). Как уже отмечалось, содружество группы цитокинов — ИЛ-6, ИЛ-4, ИЛ-2 и γ-интерферона — способствуют переключению синтеза IgM антител на IgG. Преобладающее действие ИЛ-5 и трансформирующего фактора роста-β приводит к формированию антител класса IgA, а преобладающее действие ИЛ-4 переключает синтез иммуноглобулинов на IgE.

Некоторые антигены (полисахариды, гликолипиды, нуклеиновые кислоты) способны индуцировать иммунный ответ без помощи Т-лимфоцитов-хелперов, за что получили название *Т-независимых антигенов*. К таким антигенам относится полисахаридный антиген пневмококков и некоторых других микроорганизмов, флагеллин, декстра-

ны. Характер иммунного ответа на Т-независимые антигены подчеркивает значение кооперации с Т-хелперами при гуморальном иммунном ответе. При осуществлении Т-независимого ответа продуцируются низкоаффинные (непрочно связывающиеся с антигеном) антитела только класса IgM. Эффективность Т-независимого ответа во много раз ниже, чем тимусзависимых реакций.

Межклеточная кооперация входит в число механизмов специфической регуляции иммунного ответа в организме. В ней принимают участие специфические взаимодействия между конкретными антигенами и соответствующими им структурами антител и клеточных рецепторов.

Вопросы для самоконтроля

1. Что определяет функционирование иммунной системы как единой иерархической системы?
2. Какова роль стволовых клеток в иммунной системе?
3. Чем определяется общность всех лимфоцитов и какие особенности определяют их разделение на Т- и В-клетки и их субпопуляции?
4. Что представляют собой антигенпредставляющие клетки и какова их роль в иммунном ответе?
5. В чем отличия двух субпопуляций Т-хелперных лимфоцитов?
6. Какое место в иммунологическом реагировании занимают Т-независимые формы иммунного ответа.
7. Какие клетки определяют конечный эффект специфических иммунных реакций?
8. Что представляют собой клеточные компоненты, обозначаемые латинскими буквами CD?

ГЛАВА 14

АНТИГЕНЫ

Антигенами (*anti* — против, *genos* — род) называют вещества любого происхождения, в том числе и микробного, которые способны вызвать в организме специфическую иммунную реакцию и принимать участие в ее осуществлении. Антигены могут оказывать иммуногенное действие — вызывать активный гуморальный и клеточный ответ либо толерогенное действие, т.е. обуславливать развитие иммунологической толерантности — ареактивности к последующему иммуногенному воздействию антигена. Альтернатива индукции позитивного или негативного иммунного ответа определяется особенностями антигена, его дозой, путями поступления в организм и состоянием его иммунной системы. Во взрослом иммунологически зрелом организме приоритетно развитие позитивного иммунного ответа.

14.1. ОСНОВНЫЕ СВОЙСТВА И СТРОЕНИЕ АНТИГЕНОВ

Различают полные и неполные антигены, или гаптены. Последние — относительно простые вещества, способные участвовать в иммунологических взаимодействиях, но не способные активировать АПК и самостоятельно индуцировать иммунный ответ. Лишь после присоединения к крупным, обычно белковым молекулам (носителям), гаптен может приобрести свойства полного антигена.

Антигенными свойствами обладают биополимеры — белки, их комплексы с углеводами (гликопротеиды), липидами (липопротеиды) нуклеиновыми кислотами (нуклеопротеиды), а также сложные полисахариды, липополисахариды. Для проявления антигенных свойств имеет значение размер молекулы. Молекулы с молекулярной массой более 10000, как правило, антигенны, а при меньшей молекулярной массе чаще обладают свойствами гаптенов. Полисахариды антигенны при молекулярной массе выше 100000. Полипептиды, состоящие из L-аминокислот, антигенны, а состоящие из D-аминокислот, лишены этого свойства. Белки при денатурации утрачивают свои антиген-

ные свойства. Например, белки, коагулированные кипячением, обработкой крепкими растворами кислот или щелочей, перестают быть антигенами. Проявления антигенного действия связано с катаболическим разрушением антигенов в организме. Так, D-полипептиды медленно и не полностью разрушаются ферментами организма и не проявляют антигенных свойств.

Практически все природные субстраты, обладающие антигенными свойствами, являются комплексами нескольких антигенов. Ниже будет показано, что микробная клетка обладает множеством антигенов, свойственных отдельным ее структурам. Даже индивидуальные молекулы могут обладать несколькими антигенами

Основными свойствами антигена являются: *специфичность*, *чужеродность*, *иммуногенность* или *толерогенность*.

Специфичность. Антигенная специфичность представляет собой уникальное биологическое явление, которое лежит в основе иммунологических взаимодействий в организме, а также лабораторных методов определения разных антигенов, серодиагностики, методов специфической профилактики и терапии инфекционных заболеваний.

Структура, обладающая индивидуальной антигенной специфичностью, называется *антигенным детерминантом*, или *эпитопом*. Последнее название отражает то, что антигенной активностью обладают только структуры лежащие на поверхности молекулы, а глубокие проявляют антигенность лишь при изменении конформации или разрушении молекулы. Разнообразие белковых эпитопов достигается за счет мозаики аминокислотных остатков, расположенных на глобулярной поверхности молекулы белка.

Эпитопы, определяющие антигенность белковой молекулы, состоят из 6–25 аминокислот и располагаются в разных частях молекулы, разделяясь неантигенными структурами. При этом эпитопы одной молекулы не обязательно должны иметь одинаковый состав и одинаковую специфичность. Количество одинаковых эпитопов на молекуле определяет число молекул антител, которые могут к ней присоединиться, т.е. валентность данного антигенного субстрата. Валентность антигенов возрастает с их молекулярной массой. Так, валентность яичного альбумина с молекулярной массой 45000 равна 5, а валентность гемоцианина с мол. массой 6,5 млн. — 231. Эпитоп, отделенный от молекулы, может иметь только одну валентность и обладать свойствами гаптена, а вся молекула для данного эпитопа-гаптена играет роль носителя.

Поскольку эпитопы, определяющие антигенные свойства молекулы расположены на одних участках, а токсические свойства микробных токсинов определяют другие участки, могут быть приготовлены анатоксины-молекулы, лишенные токсических свойств, но сохранив-

ших антигенные. Анатоксины служат основой вакцинных препаратов для создания антитоксического иммунитета.

Чужеродность. Антиген вызывает позитивный иммунный ответ (образование антител и активных лимфоцитов) только в тех случаях, когда он чужероден, т.е. обладает стектурами, отсутствующими в данном организме. К собственным антигенам организм толерантен. Только при изменениях, придающих антигену признаки чужеродности, он приобретает способность индуцировать позитивный иммунный ответ.

Строение антигенов отражает эволюционную близость обладающих ими организмов. Существуют общие антигены, свойственные представителям разных семейств, родов, видов. Имеются вариантные антигены, различные для особей одного и того же вида. Определение антигенного состава используется для классификации разных групп живых существ и выявления эволюционных связей между ними.

В ходе эволюции микроорганизмы, инфицирующие человека и животных, приобретают антигены, сходные с антигенами хозяина, что называется *антигенной мимикрией.* Это способствует тому, что к таким антигенам долго не возникает иммунологической реакции, и микроорганизмы получают дополнительный шанс для выживания в организме хозяина, поскольку они не распознаются как чужеродные. Чужеродные антигены, обладающие структурами, сходными с антигенами хозяина, получили название *перекрестнореагирующих антигенов* (ПРА). Однако, поскольку ПРА находятся в комплексе с другими высокоиммуногенными для организма антигенами, иммунный ответ на них может возникнуть. В этом случае образовавшиеся гуморальные и клеточные антитела вступают в контакт с антигенами хозяина и могут вызвать иммунопатологический процесс. Известно, что некоторые штаммы гемолитических стрептококков могут обладать ПРА с антигенами эндокарда, почечных клубочков и нервной ткани человека, что способствует развитию ревматизма, гломерулонефрита и хореи. Соответственно вирус кори имеет ПРА с основным белком миелина, и иммунная реакция способствует демиелинизации нервных волокон и развитию рассеянного склероза.

Антигены нервной системы, глаз, репродуктивных органов отделены от внутренней среды физиологическими барьерами. Их антигены не индуцируют полноценную толерантность и не вызывают в здоровом организме аутоиммунной реакции, поскольку не проникают в органы иммуногенеза. Такие антигены называют *забарьерными.* В случаях повреждения барьеров при травме или заболевании забарьерные антигены поступают в общую циркуляцию и могут вызвать иммунопатологический процесс.

Собственные антигены организма могут подвергнуться модификации при действии внешних химических или физических факто-

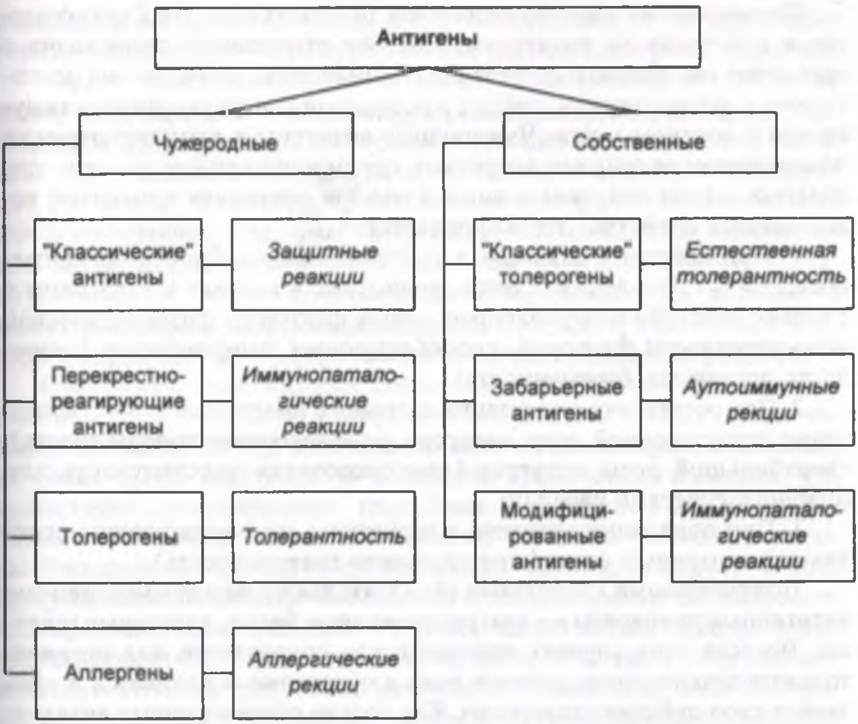


Схема 14.1. Антигены и вызываемые ими реакции

ров или вступить в контакт с чужеродными веществами гаптенной природы. В результате формируются антигены, гаптенная часть которых — чужеродная структура, а носитель — собственный антиген. Такие модифицированные антигены часто служат причиной развития аллергических реакций (см. схему 14.1).

Иммуногенность и толерогенность — альтернативные свойства каждого антигенного субстрата. Для индукции иммунного ответа и толерантности необходимо воздействие антигена на лимфоцит, обладающий рецепторами для данного антигена — антиген-реактивную клетку (АРК). Отличия состоят в том, что при индукции позитивной иммунной реакции АРК получают стимулы от цитокинов, обеспечивающие их пролиферацию и формирование клона эффекторных клеток. При индукции иммунологической толерантности АРК не подвергается дальнейшей стимуляции и либо погибает, либо лишается рецепторов к антигену.

Формирование иммунологической толерантности Т-и В-лимфоцитов к собственным антигенам, как уже отмечалось, происходит в организме постоянно и созревающие лимфоциты, обладающие рецепторами к аутоантигенам, гибнут в результате контакта с ними в тимусе или в костном мозге. Чужеродные антигены в иммунологически полноценном организме встречают преимущественные условия для иммуногенного действия и лишь в особых ситуациях проявляют толерогенные свойства. Это наблюдается:

1. При действии антигена в условиях неспособности организма обеспечить стимуляцию клеток, вошедших в контакт с антигеном в случаях действия иммунодепрессивных факторов, физиологической недостаточности факторов, способствующих иммуногенезу (незрелость организма, беременность).

2. При отсутствии стимуляции активного иммунного ответа, вследствие недостаточной дозы антигена («низкодозная» толерантность), сверхбольшой дозы антигена («высокодозная» толерантность или иммунологический паралич).

3. При попадании антигена в структуры, не формирующие позитивный иммунный ответ («пероральная» толерантность).

Толерогенными свойствами обладают также низкоиммуногенные антигенные препараты — деагрегированные белки, некоторые гаптены. Во всех этих случаях толерантность сохраняется, как правило, только в течение того времени пока в организме сохраняется и проявляет свое действие толероген. Как только созреют новые антигенреактивные клетки (АРК), не подвергшиеся толерогенной обработке, толерантность прекращается, несмотря на то, что в организме еще сохраняются ареактивные клетки.

Для характеристики иммунологической толерантности следует отметить, что чувствительность Т- и В-лимфоцитов к индукции толерантности различна: Т-лимфоциты более чувствительны к индукции толерантности, чем В-лимфоциты, и сохраняются толерантными более длительное время. Поэтому в организме может возникнуть ситуация, когда Т-лимфоциты толерантны к данному антигену, а В-лимфоциты не толерантны. В этом случае иммунологическая толерантность на уровне организма сохраняется, так как для активации В-лимфоцитов необходим сигнал от Т-хелперов. Однако в некоторых случаях создаются условия для нарушения толерантности, так как на некоторые антигены В-лимфоциты реагируют без помощи Т-клеток.

Условия, способствующие иммуногенному действию антигенов. Иммуногенность зависит от состояния иммунизируемого организма, дозы способа введения, интервалов между прививками, свойств антигена, в частности от скорости разрушения его в организме. Иммуногенный эффект лучше всего проявляется при внутрикожном и

подкожном введении антигена, а при необходимости создать секреторный иммунитет — при пероральном или ингаляторном введении.

Иммуногенность повышается при введении антигенов с *адъювантами* (лат. *adjuvare* —помогать), препаратами, способствующими созданию депо антигена, стимуляции фагоцитоза. Адъюванты обладают митогенным действием на лимфоциты, способствуют продукции цитокинов. В качестве адъювантов используются гидроксид или фосфат алюминия, масляные эмульсии. Применяемый для иммунизации животных адъювант Фрейнда — смесь минерального масла, эмульгатора и убитых микобактерий туберкулеза. Роль адъюванта может выполнить липополисахарид (ЛПС) грамотрицательных бактерий, служащий неспецифическим стимулятором В-лимфоцитов.

Суперантигены. Каждый антиген вызывает первичный иммунный ответ, взаимодействуя с предсуществующими антиген-реактивными клетками (АРК), изначальное количество которых составляет не более 0,01% всех АРК. В последнее время стало известно, что существуют *суперантигены*, способные активировать до 20% АРК. Такими свойствами обладают некоторые антигены (белковые токсины бактерий, энтеротоксин стафилококка, некоторые вирусы и др.). Их суперантигенное действие связано со способностью активировать изолированно вариабильный (V) домен одной из двух (бета) цепей составляющих $CD4^+$ рецептор Т-лимфоцита. Участия в этом взаимодействии МНС не требуется. Поскольку V-домен бета цепи CD4 рецептора одинаков у значительного числа Т-лимфоцитов, происходит активация многих клонов АРК и формирование иммунного ответа на многие антигены, в том числе и на собственные. Это может привести к развитию аутоиммунных реакций (рис. 14.1, 14.2).

Рис. 14.1. Связывание антигена с Т-лимфоцитом

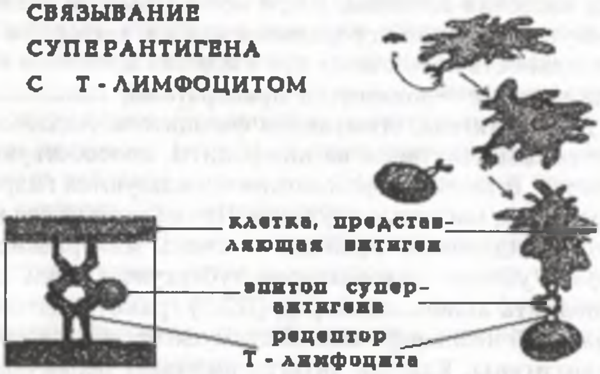


Рис. 14.2. Связывание суперантигна с Т-лимфоцитом

14.2. АНТИГЕНЫ ОРГАНИЗМА ЧЕЛОВЕКА

Все ткани и клетки организма человека обладают антигенными свойствами. Одни антигены специфичны для всех млекопитающих, другие видоспецифичны для человека, третьи — для отдельных групп„ их назвают *изоантигенами* (например, антигены групп крови). Антигены, свойственные только данному организму, называют *аллоантигенами* (греч. *аллос* — другой). К ним относятся антигены тканевой совместимости — продукты генов главного комплекса тканевой совместимости МНС (Major Histocompatibiliti Complex), свойственные каждому индивидууму (см. с. 273). Антигены разных лиц, не имеющие отличий, называют *сингенными*. Органы и ткани помимо других антигенов обладают специфичными для них органными и тканевыми антигенами. Антигенным сходством обладают одноименные ткани человека и животных. Существуют стадиоспецифические антигены, появляющиеся и исчезающие на отдельных стадиях развития тканей или клеток. Каждая клетка содержит антигены характерные для наружной мембраны, цитоплазмы, ядра и других компонентов.

Антигены каждого организма в норме не вызывают в нем иммунологических реакций, поскольку организм к ним толерантен. Однако при определенных условиях они приобретают признаки чужеродности и становятся аутоантигенами, а возникшую против них реакцию называют *аутоиммунной*.

Антигены опухолей и противоопухолевый иммунитет. Клетки злокачественных опухолей представляют собой варианты нормальных клеток организма. Поэтому им свойственны антигены тех тканей, из

которых они произошли, а также антигены, специфичные для опухоли и составляющие малую долю всех антигенов клетки. В ходе канцерогенеза происходит дедифференцировка клеток, поэтому может происходить утрата некоторых антигенов, появление антигенов, свойственных незрелым клеткам, вплоть до эмбриональных (фетопротеины). Антигены, свойственные только опухоли, специфичны только для данного вида опухоли, а нередко для опухоли у данного лица. Опухоли, индуцированные вирусами, могут иметь вирусные антигены, одинаковые у всех опухолей, индуцированных данным вирусом. Под влиянием антител у растущей опухоли может меняться ее антигенный состав.

Лабораторная диагностика опухолевой болезни включает выявление антигенов, свойственных опухоли в сыворотках крови. Для этого в настоящее время медицинская промышленность готовит диагностические наборы, содержащие все необходимые ингредиенты для выявления антигенов при иммуноферментном, радиоиммунном, иммунолюминесцентном анализе (*см. гл. 19*).

Резистентность организма к опухолевому росту обеспечивается действием естественных киллерных клеток, которые составляют 15% всех лимфоцитов, постоянно циркулирующих в крови и всех тканях организма. Естественные киллеры (ЕК) обладают способностью отличать любые клетки, имеющие признаки чужеродности, в том числе опухолевые, от нормальных клеток организма и уничтожать чужеродные клетки. При стрессовых ситуациях, болезнях, иммунодепрессивных воздействиях и некоторых других ситуациях число и активность ЕК снижаются и это служит одной из причин начала опухолевого роста. В ходе развития опухоли ее антигены вызывают иммунологическую реакцию, но она, как правило, недостаточна для остановки опухолевого роста. Причины этого явления многочисленны и недостаточно изучены. К ним относятся: 1) низкая иммуногенность опухолевых антигенов вследствии их близости к нормальным антигенам организма, к которым организм толерантен; 2) развитие толерантности вместо позитивного ответа; 3) развитие иммунного ответа по гуморальному типу, тогда как подавить опухоль могут только клеточные механизмы; 4) иммунодепрессивные факторы, вырабатываемые злокачественной опухолью. Химио- и радиотерапия опухолей, стрессовые ситуации при хирургических вмешательствах могут быть дополнительными факторами, снижающими иммунную защиту организма. Меры по повышению уровня противоопухолевой резистентности включают использование иммуностимулирующих средств, препаратов цитокинов, стимуляцию иммуноцитов пациента in vitro с возвратом в русло крови больного.

Изоантигены. Это антигены, по которым отдельные индивидуумы или группы особей одного вида различаются между собой.

В эритроцитах, лейкоцитах, тромбоцитах, а также в плазме крови людей открыто несколько десятков видов изоантигенов.

Изоантигены, генетически связанные, объединены в группы, получившие названия: *система АВО*, *резус* и др. В основе деления людей на группы по системе АВО лежит наличие или осутствие на эритроцитах антигенов, обозначенных А и В. В соответствии с этим все люди подразделены на 4 группы. Группа I (0) — антигены отсутствуют, группа II (А) — в эритроцитах содержится антиген А, группа III (В) — эритроциты обладают антигеном В, группа IV (АВ) — эритроциты обладают обоими антигенами. Поскольку в окружающей среде имеются микроорганизмы, обладающие такими же антигенами (их называют *перекрестнореагирующими*), у человека имеются антитела к этим антигенам, но только к тем, которые у него отсутствуют. К собственным антигенам организм толерантен. Следовательно, в крови лиц I группы содержатся антитела к антигенам А и В, в крови лиц II группы — анти-В, в крови лиц III группы — анти-А, в крови лиц IV группы антитела к А- и В-антигенам не содержатся. При переливании крови или эритроцитов реципиенту, в крови которых содержатся антитела к соответствующему антигену, в сосудах происходит агглютинация перелитых несовместимых эритроцитов, что может вызвать шок и гибель реципиента. Соответственно люди I (0) группы именуются универсальными донорами, а люди IV (АВ) группы — универсальными реципиентами. Кроме антигенов А и В эритроциты человека могут обладать и другими изоантигенами (M, M_2, N, N_2) и др. К этим антигенам нет изоантител, и следовательно, их присутствие не учитывается при переливании крови.

У части людей эритроциты содержат еще особый антиген, получивший название *резус-антигена* (Rh). Он является термолабильным липопротеидом и имеет 6 разновидностей. У человека Rh-антиген обнаруживается, помимо эритроцитов, в слюне, амниотической жидкости и в желудочном соке. По наличию или отсутствию Rh-антигена людей разделяют на две группы — резус (Rh)-положительных и резус (Rh)-отрицательных. Установлено, что принадлежность данного индивидуума к той или другой группе детерминирована генетически и зависит от наличия или отсутствия гена *D* или *d* в одной из хромосом. Rh-положительные особи имеют генотип *DD* или *Dd*, Rh-отрицательные особи — генотип *dd*. Ген *D* контролирует образование в клетках поверхностных антигенных структур, обладающих высокой антигенностью. При переливании крови Rh-отрицательному реципиенту, если эритроциты донора содержат Rh-антиген, может развиваться гемолитическая желтуха. При беременности женщины, не имеющей Rh-антигена, от мужчины, имеющего Rh-антиген, клетки плода могут содержать *D*-ген и соответствующий ему Rh-антиген. Резус-антигены проникают в организм матери и вызывают образование анти-Rh-антител. Образовавшиеся антитела попадают в кровь плода, вызывая лизис его эритроцитов, вследствие чего ребенок рождается с признаками гемолитической желтухи, и даже возможен самопроизвольный аборт (мертворождение).

Выраженный Rh-конфликт развивается чаще при повторной беременности Rh-отрицательной женщины Rh-положительным плодом, так как иммунизация плодным Rh-антигеном происходит во время первых родов в результате массивного попадания крови плода в кровоток матери.

Антигены главного комплекса тканевой совместимости. Помимо антигенов, свойственных всем людям и групповых антигенов, каждый организм обладает уникальным набором антигенов, свойственных только ему самому. Эти антигены кодируются группой генов, находящихся у человека на 6 хромосоме, и называются *антигенами главного комплекса* тканевой совместимости и обозначаются *МНС-антигены* (англ. *Major histocompatibility complex*). МНС-антигены человека впервые были обнаружены на лейкоцитах и поэтому имеют другое название-HLA (Human leucocyte antigens). МНС-антигены относятся к гликопротеинам и содержатся на мембранах клеток организма, определяя его индивидуальные свойства и индуцируют трансплантационные реакции, за что они получили третье название — *трансплантационные антигены*. Кроме того, МНС-антигены играют обязательную роль в индукции иммунного ответа на любой антиген (*см. главу 12*).

Гены МНС кодируют три класса белков, из которых два имеют прямое отношение к работе иммунной системы и рассматриваются ниже, а в число белков III класса входят компоненты комплемента (*см. главу 13*), цитокины группы ФНО, белки теплового шока.

Белки I класса находятся на поверхности практически всех клеток организма. Они состоят из двух полипептидных цепей (см. рис. 15.1): тяжелая α-цепь нековалентно связана со второй β-цепью. α-цепь существует в трех вариантах, что определяет разделение антигенов класса на три серологические группы А, В и С. Тяжелая цепь обуславливает контакт всей структуры с мембраной клеток и ее активность. β-цепь представляет собой микроглобулин одинаковый для всех групп. Каждый антиген I класса обозначается латинской буквой и порядковым номером данного антигена.

Антигены I класса обеспечивают представление антигенов цитотоксическим $CD8^+$-лимфоцитам, а распознавание этого антигена антиген-представляющими клетками другого организма при трансплантации приводит к развитию трансплантационного иммунитета (табл. 14.1).

МНС антигены II класса (см. рис. 15.1) находятся преимущественно на антиген-представляющих клетках — дендритных, макрофагах, В-лимфоцитах. На макрофагах и В-лимфоцитах их экспрессия резко увеличивается после активации клетки. Антигены II класса подразделяются на 5 групп, в каждой из которых имеется от 3 до 20 антигенов. В отличие от антигенов I класса, которые выявляются в серологических тестах с помощью сывороток, содержащих антитела к ним, антигены II класса лучше всего выявляются в клеточных тестах —

Таблица 14.1

Свойства структур МНС I и II классов

Класс МНС	I класс	II класс
Основные структуры	A, B, C	DP, DQ, DR, DO, DN
Местонахождение	Большинство клеток	Дендритные и В-клетки, макрофаги
Представление антигенов	Цитотоксическим ($CD8^+$) Т-клеткам	Т-хелперам ($CD4^+$)
Отторжение трансплантатов	++++	++
Образование антител	+	++++
Гены иммунного ответа	+	++++
Цитотоксичность эффекторов	++++	++
Структура 2-х цепей	Гликопротеин 44 тыс. кДа Микроглобулин 12 тыс. кДа	Гликопротеины 34 и 28 тыс. кДа
Методы выявления	Серологические	Смешанная культура лимфоцитов
Обозначения: ++++ — максимальная реакция; ++ — реакция выражена слабо и возникает не всегда; + — реакция не типична		

активации клеток при совместном культивировании испытуемых клеток со стандартными лимфоцитами.

Наряду с этим применяются и серологические тесты с моноклональными антителами (*см. главу 20.1*). Обозначаются антигены II класса двумя латинскими буквами DP, DQ, DR, DO, DN и порядковым номером антигена. Основная роль в иммуногенезе антигенов II класса — участие в представлении чужеродных антигенов Т-хелперным лимфоцитам (*см. главу 12*).

МНС-антигены представлены на клетках человека продуктами двух аллельных групп генов, находящихся в составе двух наборов (гаплотипов). Каждый гаплотип содержит по одному гену каждой группы. Следовательно, весь набор генов содержит по два антигена каждой группы. Например, генотип может иметь такую формулу: A1, A3, B7, B8, Cw1, Cw3, DR1, DR3 и т.д. В том случае, если два гена одной группы совпадают, фенотипически проявляется один антиген. Потомок наследует от каждого из родителей по одному

гаплотипу и, следовательно, может быть унаследован один из четырех вариантов (если обозначить гаплотипы отца как А и Б, а гаплотипы матери — В и Г, то потомок может обладать наборами АВ, АГ, БВ или БГ).

14.3. АНТИГЕНЫ МИКРООРГАНИЗМОВ

Каждый микроорганизм, как бы примитивно он ни был устроен, содержит несколько антигенов. Чем сложнее его структура, тем больше антигенов можно обнаружить в его составе.

У различных микроорганизмов, принадлежащих к одним и тем же систематическим категориям, различают группоспецифические антигены — встречаются у разных видов одного и того же рода или семейства, видоспецифические — у различных представителей одного вида и типоспецифические (вариантные) антигены — у разных вариантов в пределах одного и того же вида. Последние подразделяют на серологические варианты, или серовары. Среди бактериальных антигенов различают Н, О, К и др. (рис. 14.3а, 14.3б).

Жгутиковые Н-антигены. Как видно из названия, эти антигены входят в состав бактериальных жгутиков. Н-антнген представляет собой белок флагеллин. Он разрушается при нагревании, а после обработки фенолом сохраняет свои антигенные свойства.

Соматический О-антиген. Ранее полагали, что О-антиген заключен в содержимом клетки, ее соме, поэтому и назвали его соматическим антигеном. Впоследствии оказалось, что этот антиген связан с бактериальной клеточной стенкой.

О-антиген грамотрицательных бактерий связан с ЛПС клеточной стенки. Детерминантными группами этого слижного комплексного антигена являются концевые повторяющиеся звенья полисахаридных цепей, просоединенные к ее основной части. Состав сахаров в детерминантных группах, так же как и их число, у разных бактерий неоди-

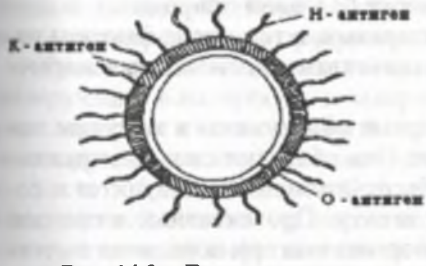


Рис. 14.3а. Бактериальные антигены

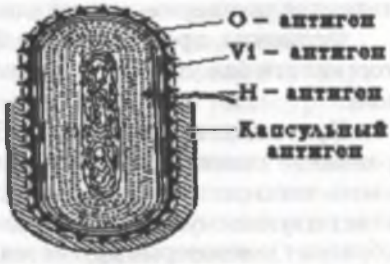


Рис. 14.3б. Антигенная структура бактериальной клетки

наков. Чаще всего в них содержатся гексозы (галактоза, глюкоза, рамноза и др.), аминосахар (N-ацетилглюкозамин). О-антиген термистабнлен: сохраняется при кипячении в течение 1–2 ч, не разрушается после обработки формалином и этанолом. При иммунизации животных живыми культурами, имеющими жгутики, образуются антитела к О- и Н-антигенам, а при иммунизации кипяченой культурой образуются антитела только к О-антнгену.

К-антигены (капсульные). Эти антигены хорошо изучены у эшерихий и сальмонелл. Они, так же как О-антигены, тесно связаны с ЛПС клеточной стенки и капсулой, но в отличие от О-антигена содержат главным образом кислые нолисахариды: глюкуроновую, галактуроновую и другие уроновые кислоты. По чувствительнсти к температуре К-антигены подразделяют на А-, В- и L-антигены. Наиболее термостабильными являются А-антигены, выдерживающие кипячение более 2 ч. В-антигены выдерживают нагревание при температуре 60°С в течение часа, а L-антигены разрушаются при нагревании до 60°С.

К-антигены располагаются более поверхностно, чем О-антигены, и часто маскируют последние. Поэтому для выявления О-антигенов необходимо предварительно разрушить К-антигены, что достигается кипячением культур. К капсульным антигенам относится так называемый Vi-антиген. Он обнаружен у брюшнотифозных и некоторых других энтеробактерий, обладающих высокой вирулентностью, в связи с чем данный антиген получил название *антигена вирулентности*.

Капсульные антигены полисахаридной природы выявлены у пневмококков, клебсиелл и других бактерий, образующих выраженную капсулу. В отличие от группоспецифических О-антигенов они часто характеризуют антигенные особенности определенных штаммов (вариантов) данного вида, которые на этом основании подразделяются на с е р о в а р ы. У сибиреязвенных бацилл капсульный антиген состоит из полипептидов.

Антигены бактериальных токсинов. Токсины бактерий обладают полноценными антигенными свойствами в том случае, если они являются растворимыми соединениями белковой природы.

Ферменты, продуцируемые бактериями, в том числе факторы патогенности (*см. 10.1.1*), обладают свойствами полноценных антигенов.

Протективные антигены. Впервые обнаружены в экссудате пораженной ткани при сибирской язве. Они обладают сильно выраженными антигенными свойствами, обеспечивающими иммунитет к соответствующему инфекционному агенту. Протективные антигены образуют и некоторые другие микроорганизмы при попадании в организм хозяина, хотя эти антигены не являются их постоянными компонентами.

Антигены вирусов. В каждом вирионе любого вируса содержатся различные антигены. Одни из них являются вирусспецифическими. В состав других антигенов входят компоненты клетки хозяина (липиды, углеводы), которые включаются в его внешнюю оболочку. Антигены простых вирионов связаны с их нуклеокапсидами. По своему химическому составу они принадлежат к рибонуклеопротеидам или дезоксирибонуклеопротеидам, которые являются растворимыми соединениями и поэтому обозначаются как S-антигены (*solutio*—раствор). У сложноорганизованных вирионов одни антигенные компоненты связаны с нуклеокапсидами, другие — с гликопротеидами внешней оболочки. Многие простые и сложные вирионы содержат особые поверхностные V-антигены — гемагглютинин и фермент нейраминидазу. Антигенная специфичность гемагглютинина у разных вирусов неодинакова. Данный антиген выявляется в реакции гемагглютинации или ее разновидности — реакции гемадсорбции. Другая особенность гемагглютинина проявляется в антигенной функции вызывать образование антител — антигемагглютининов и вступать с ними в реакцию торможения гемагглютинации (РТГА) (*см. 19.5*).

Вирусные антигены могут быть группоспецифическими, если они обнаруживаются у разных видов одного и того же рода или семейства, и типоспецифическими, присущими отдельным штаммам одного и того же вида. Эти различия учитываются при идентификации вирусов.

Наряду с перечисленными антигенами в составе вирусных частиц могут присутствовать антигены клетки хозяина. Так, например, вирус гриппа, выращенный на аллантоисной оболочке куриного эмбриона, реагирует с антисывороткой, полученной к аллантоисной жидкости. Этот же вирус, взятый из легких инфицированных мышей, реагирует с антисывороткой к легким данных животных и не реагирует с антисывороткой к аллантоисной жидкости.

Гетерогенные антигены (гетероантигены). Общие антигены, обнаруженные у представителей различных видов микроорганизмов, животных и растений, называют *гетерогенными.* Например, гетерогенный антиген Форсмана содержится в белковых структурах органов морской свинки, в эритроцитах барана и сальмонеллах.

Существование общих гетероантигенов у животных и паразитирующих в их организме микроорганизмов можно рассматривать как следствие антигенной мимикрии паразита, т.е. способности разных патогенных микроорганизмов маскироваться в организме за счет общих антигенов. В результате подобной маскировки клетки иммунной системы организма недостаточно активно отвечают синтезом антител на инфекцию данными патогенными агентами.

Перекрестно реагирующие антигены (ПРА) обнаружены у ряда микроорганизмов и в тканях человека. К ним

относится антиген слизистой оболочки кишечника человека, в частности у больных язвенным колитом, и общий антиген энтеробактерий. Гемолитические стрептококки группы А содержат ПРА, общие с аутоантигенами миокарда и клубочков почек, с чем связывают их способность провоцировать ревмокардит и гломерулонефрит. ДНК-содержащие вирусы и ядра клеток организма человека также несут в себе ПРА. Для паразита ПРА играют защитную роль, для организма хозяина они могут стать пусковым механизмом аутоиммунного заболевания (*см. 18.4*).

Вопросы для самоконтроля

1. Каковы основные свойства антигенов?
2. Какая структура антигена определяет его специфичность?
3. Что такое толерогенность антигена?
4. Дайте определение перекрестно реагирующим антигенам (ПРА) и антигенной мимикрии.
5. Какие условия способствуют иммуногенному действию антигена?
6. Какие изоантигены организма человека представляют для медицины наибольший интерес?
7. Каковы свойства суперантигенов?
8. Каковы последствия действия суперантигена в организме человека?
9. Каковы особенности опухолевых антигенов?
10. Каковы природа и функции антигенов главного комплекса гистосовместимости I и II классов?
11. Каких людей относят к универсальным донорам и универсальным реципиентам?
12. Каковы особенности антигенов, связанные с разными структурами бактериальной клетки и с ее продуктами?
13. Дайте характеристику групповым, видовым и типоспецифическим антигенам.
14. Каковы особенности антигенов, связанные с разными структурами вирионов?

ГЛАВА 15
АНТИТЕЛА (ИММУНОГЛОБУЛИНЫ) И АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЕ РЕЦЕПТОРЫ ЛИМФОЦИТОВ

Способность клеток и молекул к участию в иммунологических реакциях определяется наличием в их составе структур, способных к взаимодействию с каким-либо антигеном. Такими структурами (рецепторами) В-лимфоцитов служат находящиеся на поверхности клетки молекулы иммуноглобулинов, способные отделяться от клетки и функционировать в организме как свободные антитела. Рецепторы Т-лимфоцитов — гликопротеидные молекулы, которые в случае отделения от клетки утрачивают способность взаимодействовать с антигенами.

Все рецепторы лимфоцитов и свободные антитела принадлежат к *суперсемейству иммуноглобулинов*, к которому относятся связанные с клетками и свободные молекулы, определяющие процессы распознавания, адгезии и связывания в иммунной системе. Все члены суперсемейства иммуноглобулинов происходят от общих генов-предков путем конвергентной эволюции. Все представители суперсемейства обладают гомологией в пределах 15%. Молекулы членов суперсемейства представляют собой полипептидные цепи, состоящие из последовательностей аминокислотных остатков (рис. 15.1). Последовательности аминокислотных остатков образуют компактные структуры, именуемые *доменами*, каждый из которых содержит 70–110 аминокислот. Все члены суперсемейства содержат в своем составе один и более доменов. Домены могут быть консервативными, т.е. одинаковыми у всех молекул и вариабильными — неодинаковыми у разных молекул данной группы. Структура цепей и связь их между собой поддерживается дисульфидными связями. На рис. 15.1 представлено схематическое изображения отдельных представителей суперсемейства.

15.1. АНТИТЕЛА (ИММУНОГЛОБУЛИНЫ)

Антителами называют белки, образование которых индуцируются антигенами и основным свойством которых является способность к специфическому взаимодействию с антигеном. Антитела — это молекулы гликопротеидов, которые по своей электрофоретической подвижности относятся к γ-глобулинам и по международной классификации именутся *иммуноглобулинами.* Они составляют $^1/_3$ всех белков сыворотки крови (около 16 г/л.). Иммуноглобулины и антитела —

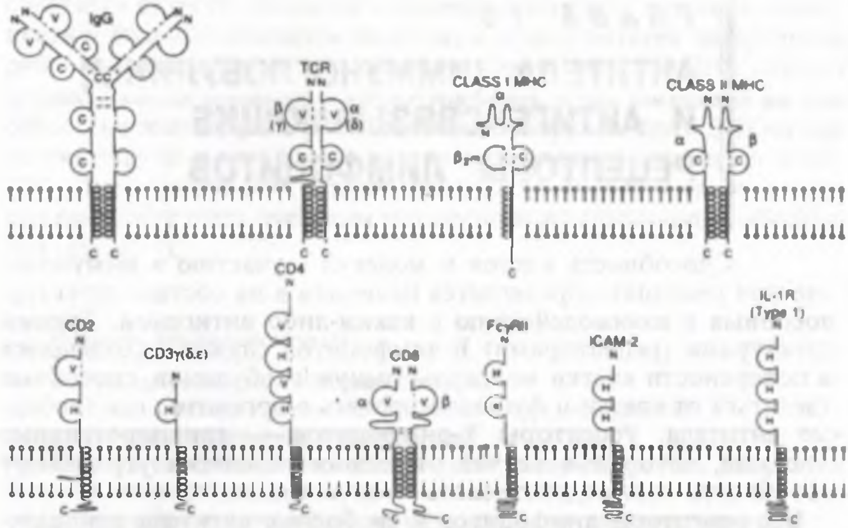


Рис. 15.1. Протеины суперсемейства иммуноглобулинов (схема):
TCR — Т-клеточный рецептор антигена; Class MHC — молекулы MHC I или II класса; CD2 — рецептор Т-лимфоцита; CD3 — рецептор Т-лимфоцита; CD4 — рецептор Т-хелперов; CD8 — рецептор Т-цитотокс/супрессоров; FcγR — рецептор IgG; ICAM — молекула межклеточной адгезии; IL-1R — рецептор ИЛ-1

синонимы. Однако слово «антитело» чаще используется тогда, когда речь идет об иммуноглобулине определенной специфичности. Продуцентами иммуноглобулинов являются В-лимфоциты и их производные плазматические клетки (*см. главу 13*).

Все антитела данной специфичности являются продуктами одного клона клеток-антителопродуцентов. Продукты одного клона могут быть названы *моноклональными* антителами. Однако поскольку каждый природный антигенный субстрат представляет собой комплекс антигенов, иммунный ответ на него реализуется несколькими клонами клеток и образованные антитела являются *поликлональными*. Моноклональные антитела могут быть получены в лабораторных условиях при культивировании клеток-антителопродуцентов, принадлежащих к одному клону (см. 19.3.3).

Антитела, которые продуцируются в организме после иммунизации или в результате инфекционного процесса, называют *иммунными*. Антитела, появление которых не связано с иммунизацией или инфекцией называют *нормальными*. В части случаев появление нормальных антител связано с незарегистрированным антигенным воздействием, например скрыто протекающим инфекционным процессом. Однако истинные нормальные антитела — результат неспецифической активации антиген-реактивных клеток цитокинами или другими стимуляторами, формируемыми в ходе иммунного ответа на

другие антигены. Нормальные антитела способствуют индукции первичного иммунного ответа, участвуя в представлении антигена антигенреактивным клеткам, и усиливают фагоцитоз, направляя действие фагоцитов на микробные и другие клетки, к которым присоединились антитела (опсонизация).

15.2. СТРУКТУРА ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

Белковая часть молекулы иммуноглобулина состоит из 4 полипептидных цепей —двух тяжелых Н-цепей (англ. *Heavy chains*) и двух легких L-цепей (англ. *Light chains*), различающихся по молекулярной массе. В одной молекуле иммуноглобулина каждая пара легких и тяжелых цепей идентична друг другу.

Каждая полипентидная цепь состоит из вариабельной V- и стабильной, или константной, С-части (см. рис. 15.1), которые на электронно-микроскопических снимках имеют форму буквы Y.

V-участок начинается с М-конца полипептидной цепи и заканчивается примерно на 110 аминокислотном остатке как в легких, так и в тяжелых цепях. Они составляют активный центр — паратоп. Участки такой протяженности получили название *доменов*. Легкая цепь состоит из двух доменов, один из которых относится к V-участку, другой — к С-участку, как это показано на рис. 15.1.

V-участок тяжелой цепи представлен одним доменом, в то время как С-участок включает 3 или 4 домена в зависимости от класса иммуноглобулина. Каждая пара легких и тяжелых цепей связана дисульфидными мостиками, расположенными между их С-участками. В свою очередь обе тяжелые цени также соединены друг с другом аналогичными мостиками между их константными участками, образующими шарнир. В пределах каждого домена полипептидная цепь уложена особым образом и виде петель. Три петли в вариабельных доменах легкой и тяжелой цепи составляют гипервариабельный участок, который входит в состав антигенсвязывающего центра.

При гидролизе иммуноглобулина G (lgG), вызванном протеолитическим ферментом папаином, легкие и тяжелые полипетидные цепи распадаются на три фрагмента: два Fab-фрагмента (англ. *Fragment antigen binding*) и один Fc-фрагмент (англ. *Fragment crystalline*). Свободные концы каждого Fab-фрагмента (NH_2 или N-концы) входят и состав вариабельных доменов, формирующих антигенсвязывающий (активный) центр. Fc-фрагмент имеет свободные концы (СОО-концы), представляющие собой полипептиды с одинаковыми аминокислотными последовательностями у антител разной специфичности, и не принимают участия в формировании антигенсвязывающего центра. Их функции заключаются в фиксации и последующей активации системы комплемента по классическому пути после образования комплекса ан-

тиген — антитело, в прикреплении иммуноглобулина G к Fc-рецепторам клеточных мембран и в прохождении IgG через плаценту.

В области Fc-фрагментов антител локализуются участки (эпитопы), определяющие индивидуальную, видовую, групповую антигенную специфичность данного иммуноглобулина.

15.3. КЛАССЫ И ТИПЫ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

Иммуноглобулины подразделяют на классы в зависимости от структуры, свойств и антигенных особенностей их тяжелых цепей. Легкие цепи в молекулах иммуноглобулинов представлены двумя изотипами — лямбда (λ) и каппа (κ), которые различаются по химическому составу как вариабельных, так и константных участков, в частности наличием модифицированной аминогруппы на М-конце κ-цепи. Они одинаковы у всех классов. Тяжелые цепи иммуноглобулинов подразделены на 5 изотипов (γ, μ, α, δ, ε), которые определяют их принадлежность к одному из пяти классов иммуноглобулинов: G, M, A, D, E соответственно. Они отличаются друг от друга по структуре, антигенным и другим свойствам.

Таким образом, в состав молекул разных классов иммуноглобулинов входят легкие и тяжелые цепи, которые относятся к разным изотипическим вариантам иммуноглобулинов.

Наряду с ними имеются аллотипические варианты (аллотипы) иммуноглобулинов, несущие индивидуальные антигенные генетические маркеры, которые служат для их дифференцировки.

Наличием специфического для каждого иммуноглобулина антигенсвязывающего участка, образованного гипервариабельными доменами легкой и тяжелой цепи, обусловлены их различные антигенные свойства. Эти различия положены в основу деления иммуноглобулинов на *идиотипы*. Накопление любых антител, несущих в структуре своих активных центров новые для организма антигенные эпитопы (идиотипы), приводит к индукции иммунного ответа на них с образованием анти-антител, получивших название *антиидиотипических* (рис. 15.2).

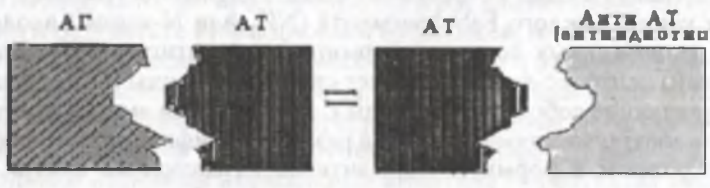


Рис. 15.2. Антиидиотипические антитела

15.3.1. Свойства иммуноглобулинов

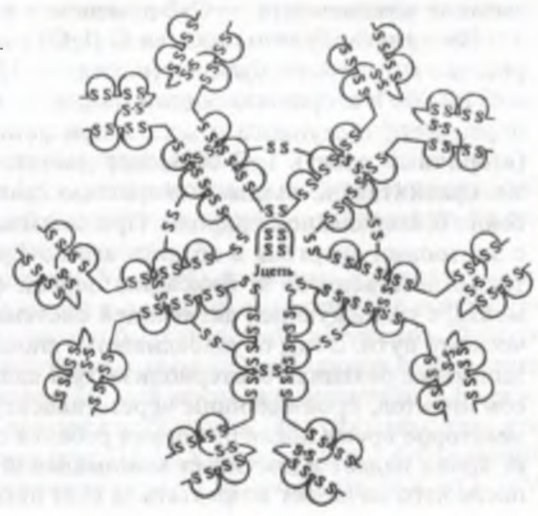
Молекулы иммуноглобулинов разных классов построены из одних и тех же мономеров, имеющих по две тяжелых и по две легких цепи, которые способны соединяться в ди- и полимеры.

К мономерам относятся иммуноглобулины G и E, к пентамерам — IgM, а IgA могут быть представлены мономерами, димерами и тетрамерами (рис. 15.3 и 15.4). Мономеры соединены между собой так называемой соединительной цепью, или j-цепью (англ. *joining* — соединительный).

Иммуноглобулины разных классов отличаются друг от друга биологическими свойствами. Прежде всего это относится к их способности связывать антигены. В данной реакции у мономеров IgG и IgE участвуют два антигенсвязывающих участка (активных центра), обусловливающих бивалентность антител. При этом каждый активный центр связывается с одним из эпитопов поливалентного антигена, образуя сетевую структуру, которая выпадает в осадок. Наряду с би- и поливалентными существуют моновалентные антитела, у которых функционирует лишь один из двух активных центров, способный связаться лишь с единичной антигенной детерминантой без последующего образования сетевой структуры иммунных комплексов. Такие антитела называются *неполными*, они выявляются в сыворотке крови с помощью реакции Кумбса (см. с. 322).

Иммуноглобулины характеризуются различной *авидностью*, под которой понимают скорость и прочность связывания с молекулой антигена. Авидность зависит от класса иммуноглобулинов. В этой связи наиболее выраженной авидностью обладают пентамеры иммy-

Рис. 15.3. Структура иммуноглобулина IgM — пентамера



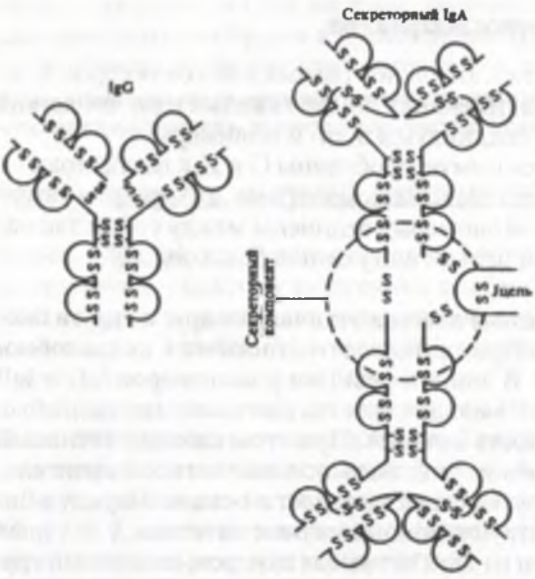


Рис. 15.4. Структура иммуноглобулина IgA (секреторного) — димера. Для сравнения — структура иммуноглобулина IgG

ноглобулинов класса М. Авидность антител меняется в процессе иммунного ответа в связи с переходом от синтеза IgM к преимущественному синтезу IgG.

Разные классы иммуноглобулинов отличаются друг от друга по способности проходить через плаценту, связывать и активировать комплемент (табл. 15.1). За эти свойства отвечают отдельные домены Fc-фрагмента иммуноглобулина, образованные его тяжелой цепью. Так, например, цитотропность IgG определяется Cγ3-доменом, связывание комплемента — Cγ2-доменом и т.д.

Иммуноглобулины класса G (lgG) составляют около 80% сывороточных иммуноглобулинов (в среднем 12 г/л), с молекулярной массой 160000 и скоростью седиментации 7S. Они образуются на высоте первичного иммунного ответа и при повторном введении антигена (вторичный ответ). IgG обладают достаточно высокой авидностью, т.е. сравнительно высокой скоростью связывания с антигеном, особенно бактериальной природы. При связывании активных центров IgG с эпитопами антигена в области его Fc-фрагмента обнажается участок, ответственный за фиксацию первой фракции системы комплемента, с последующей активацией системы комплемента по классическому пути. Этим обусловливается способность IgG участвовать в защитных реакциях бактериолиза. IgG является единственным классом антител, проникающим через плаценту в организм плода. Через некоторое время после рождения ребенка содержание его в сыворотке крови падает и достигает минимальной концентрации к 3–4 мес., после чего начинает возрастать за счет накопления собственных IgG,

Таблица 15.1

Свойства иммуноглобулинов (Ig)

Свойства иммуноглобулинов	Класс иммуноглобулинов				
	IgG	IgM	IgA	IgD	IgE
Молекулярная масса, тыс. дальтон	160	900	170–350	180	190
Скорость седиментации, S	7	19	7–13	7	8
Количество мономеров	1	5	1, 2, 4	1	1
Период полураспада, сут.[1]	21	5	6	3	2
Термостабильность	+	+	+	–	–
Содержание в сыворотке крови, г/л	12	1	2,5	0,03	0,00025
Скорость биосинтеза, мг/кг массы в день	32	7	30	0,4	0,02
Прохождение через плаценту	+	–	–	–	–
Связывание и активация комплемента по классическому пути	+	+	–	–	–
Нейтрализация токсинов	+	+	+	–	–
Агглютинация, преципитация антигена	+	+	–	–	–
Бактериолиз, опсонизация антигена	+	+	–	–	–
Цитофильность	±	–	+	?	+

[1] Время, необходимое для распада 50% содержащегося в сыворотке крови иммуноглобулина

достигая нормы к 7-летнему возрасту. Около 48% IgG содержится в тканевой жидкости, в которую он диффундирует из крови. IgG, так же как и иммуноглобулины других классов, подвергается катаболическому распаду, который происходит в печени, макрофагах, воспалительном очаге под действием протеиназ.

Известны 4 подкласса IgG, различающиеся по структуре тяжелой цепи. Они обладают разной способностью взаимодействовать с комплементом и проходить через плаценту.

Иммуноглобулины класса M (IgM) первыми начинают синтезироваться в организме плода и первыми появляются в сыворотке крови после иммунизации людей большинством антигенов. Они составляют около 13% сывороточных иммуноглобулинов при средней концентрации 1 г/л. По молекулярной массе они значительно превосходят все другие классы иммуноглобулинов. Это связано с тем, что IgM являются пентамерами (рис. 15.3), т.е. состоят из 5 субъединиц, каждая из которых имеет молекулярную массу, близкую к IgG. IgM

принадлежит большая часть нормальных антител — изогемагглютининов, которые присутствуют в сыворотке крови в соответствии с принадлежностью людей к определенным группам крови. Эти аллотипические варианты IgM играют важную роль при переливании крови. Они не проходят через плаценту и обладают наиболее высокой авидностью. При взаимодействии с антигенами in vitro вызывают их агглютинацию, преципитацию или связывание комплемента. В последнем случае активация системы комплемента ведет к лизису корпускулярных антигенов.

Иммуноглобулины класса А (IgA) встречаются в сыворотке крови и в секретах на поверхности слизистых оболочек. В сыворотке крови присутствуют мономеры IgA с константой седиментации 7S в концентрации 2,5 г/л. Данный уровень достигается к 10 годам жизни ребенки. Сывороточный IgA синтезируется в плазматических клетках селезенки, лимфатических узлов и слизистых оболочек. Они не агглютинируют и не преципитируют антигены, не способны активировать комплемент по классическому пути, вследствие чего не лизируют антигены.

Секреторные иммуноглобулины класса IgA (SIgA) отличаются от сывороточных наличием секреторного компонента, связанного с 2 или 3 мономерами иммуноглобулина А (рис. 15.4). Секреторный компонент является β-глобулином с молекулярной массой 71 KD. Он синтезируется клетками секреторного эпителия и может функционировать в качестве их рецептора, а к IgA присоединяется при прохождении последнего через эпителиальные клетки.

Секреторные IgA играют существенную роль в местном иммунитете, поскольку препятствуют адгезии микроорганизмов на эпителиальных клетках слизистых оболочек рта, кишечника, респираторных и мочевыводящих путей. Вместе с тем SIgA в агрегированной форме активирует комплемент по альтернативному пути, что приводит к стимуляции местной фагоцитарной защиты.

Секреторные IgA препятствуют адсорбции и репродукции вирусов в эпителиальных клетках слизистой оболочки, например при аденовируспой инфекции, полиомиелите, кори. Около 40% общего IgA содержится в крови.

Иммуноглобулины класса D (IgD). До 75% IgD содержится в крови, достигая концентрации 0,03 г/л. Он имеет молекулярную массу 180 000 D и скорость седиментации около 7S.

IgD не проходит через плаценту и не связывает комплемент. До сих пор неясно, какие функции выполняет IgD. Полагают, что он является одним из рецепторов В-лимфоцитов.

Иммуноглобулины класса Е (IgE). В норме содержатся в крови в концентрации 0,00025 г/л. Они синтезируются плазматическими клетками в бронхиальных и перитонеальных лимфатических узлах, в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта со скоро-

стью 0,02 мг/кг массы в сутки. Иммуноглобулины класса E называют также реагинами, поскольку они принимают участие в анафилактических реакциях (*см. 18.3*), обладая выраженной цитофильностью.

15.4. АНТИГЛОБУЛИНОВЫЕ АНТИТЕЛА

Иммуноглобулины, как и другие белки организма, обладают антигенными свойствами, если попадают в чужеродный организм. Антиглобулиновые антитела, полученные иммунизацией животных иммуноглобулинами человека, широко используются в лабораторной практике для выявления и характеристики иммуноглобулинов. В патологических условиях вследствие утраты естественной толерантности в организме образуются антитела к собственным иммуноглобулинам. Они вступают в комплексы с содержащимися в крови иммуноглобулинами и вызывают иммунопатологические процессы. Так, при ревматоидном артрите, системной красной волчанке и некоторых других заболеваниях в крови появляются аутоантитела класса IgM к собственным иммуноглобулинам класса IgG. Они получили название *ревматоидный фактор* и имеют диагностическое значение.

Поскольку чужеродные иммуноглобулины используются для профилактики или лечения, образование к ним антител нейтрализует действие введенных иммуноглобулинов и может привести к развитию патологического процесса (сывороточная болезнь, аллергическая реакция на повторное введение антигена). Для снижения иммуногенного эффекта чужеродных глобулинов разработана биотехнология создания гибридных молекул иммуноглобулинов, в которых активный V-домен получен от чужеродного глобулина, а остальные структуры константных доменов составляют компоненты человеческого иммуноглобулина. Такая молекула, основную массу которой составляют пептиды человека, не вызывает выраженных иммунных реакций.

15.5. АНТИИДИОТИПОВЫЕ АНТИТЕЛА

Выше было упомянуто о том, что структуры активного центра иммуноглобулиновой молекулы — идиотипы — обладают специфическими антигенными свойствами (см. рис. 15.2). Такими же свойствами обладают структуры активного центра клеточных рецептров лимфоцитов. Поскольку до начала иммунного ответа структуры данной специфичности в организме практически отсутствуют, к ним не формируется естественная иммунологическая толерантность. После того как в организме произошло образование антител, к их идиотиповым структурам продуцируются антитела II порядка, называемые *антиидиотиповыми*. В свою очередь, в ответ на антиидиотиповые

структуры образовавшихся антител II порядка в организме формируются антитела III порядка, которые могут быть названы *анти-анти-идиотиповыми*. Те антиидиотиповые антитела, которые образовались против антигенсвязывающей структуры идиотипа, представляют собой зеркальное изображение этой структуры. Следовательно, они являются внутренним аналогом активного центра антигена (эпитопа), который вызвал образование антител I порядка. Роль антиидиотиповых антител (АИА) в организме очень разнообразна. Связываясь с идиотипами антител, они нейтрализуют их действие. Будучи аналогом антигена АИА, могут вызывать в организме иммунный ответ и иммунологическую толерантность, а при определенных условиях и иммунопатологический процесс. По современным представлениям, идиотипы, антиидиотипы и антитела и III, и IV порядка формируют в организме сложную сеть ауторегуляции специфического иммунного ответа, в которой кроме гуморальных антител участвуют идиотипы клеточных рецепторов.

Антиидиотиповые антитела, полученные по гибридомной технологии (см. *Моноклональные антитела*), используются в качестве принципиально новых вакцин, особенно в тех случаях, когда применение вакцин из микроорганизмов встречает затруднения вследствие высокой реактогенности или трудностей изготовления.

15.6. РЕЦЕПТОРЫ АНТИГЕНРЕАКТИВНЫХ ЛИМФОЦИТОВ

Лимфоциты взаимодействуют с антигенами посредством рецепторов экспрессированных на поверхности клеток.

Рецепторы лимфоцитов представляют собой гликопротеидные молекулы, состоящие из полипептидных цепей, соединенных дисульфидными связями. Они относятся к суперсемейству иммуноглобулинов. Полипептидные цепи, составляющие рецепторы для антигенов, как и молекулы гуморальных антител, состоят из вариабильных доменов, определяющих их специфичность, и константных доменов, в том числе доменов, соединяющих рецептор с мембраной клетки (см. рис. 15.5).

15.6.1. Антигенраспознающие рецепторы В-лимфоцитов

Антигенраспознающие рецепторы В-лимфоцитов представляют собой молекулы иммуноглобулинов, чаще классов M и D. После активации В-лимфоцита антигеном на нем могут экспрессироваться молекулы других классов. Один В-лимфоцит содержит 200–500 тыс. однородных рецепторов, обладающих специфичностью к одному из антигенов. Соединение молекулы с клеткой осуществляют три конечные аминокислоты, находящиеся в составе трансмембранного домена ее тяжелых цепей и погруженные в мембрану клетки (см. рис. 15.1).

Контакт рецептора с клеткой усиливают два парных гетеродимера Ig-α и Ig-β-гликопротеины, относящиеся к суперсемейству иммуноглобулинов. Ig-α представлены несколькими вариантами, соединяющимися с тяжелыми цепями иммуноглобулиновых рецепторов разных классов, структуры Ig-β не различаются между собой. Плазматические клетки, производящие основную массу гуморальных антител, утрачивают поверхностные рецепторы в ходе диффренцировки из В-лимфоцитов.

15.6.2. Рецепторы Т-лимфоцитов

Рецепторы Т-лимфоцитов представляют собой две полипептидные цепи, состоящие из вариабильных и константных доменов, участки которых проходят через поверхностную мембрану лимфоцита и погружены в цитоплазму (см. рис. 15.5). Связь рецептора с клеткой усиливают дополнительные гликопротеиды, входящие в состав мембран. Антигенные рецепторы Т-лимфоцитов представлены двумя вариантами: α-β (более 90% Т-лимфоцитов крови) и γ-δ, содержание которых в коже, кишечнике, репродуктивных органах значительно выше, чем в приферической крови. Общее число рецепторов на Т-клетке составляет 10–20 тыс.

Т-клеточные рецепторы тесно связаны с другими гликопротеиновыми молекулами мембраны клетки, способствующими передаче антигенного сигнала от рецептора клетке. Эта группа молекул, обозначенная CD3 (см. рис. 15.1), может быть выявлена на поверхности лимфоцитов с помощью моноклональных антител и служит маркером Т-лимфоцитов. С Т-клеточным рецептором связана еще группа гликопротеиновых молекул, определяющих восприятие лимфоцитом молекул MHC I либо II класса. Эти молекулы, обозначенные соответственно CD8 и CD4, служат маркерами для выявления цитотоксических и хелперных субпопуляций Т-лимфоцитов.

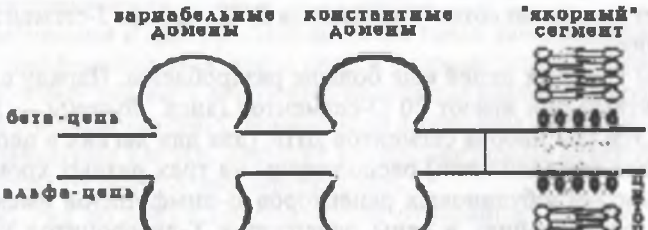


Рис. 15.5. Структура рецепторов Т-лимфоцитов

15.7. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ИММУННОГО ОТВЕТА

Центральная проблема иммунологии состоит в расшифровке механизмов иммунологической специфичности, в частности образования огромного разнообразия специфических антител и рецепторов Т- и В-лимфоцитов, обеспечивающих ответ на введение в организм природных или синтетических антигенов.

Если допустить существование особого набора генов для каждого полипептида, входящего в состав антител определенной специфичности, то количество таких генов должно измеряться десятками и сотнями миллионов, что делает такое предположение необоснованным.

С помощью методов генной инженерии было доказано, что число генов, контролирующих образование иммуноглобулинов, на самом деле ограничено. Однако в отличие от генов других белков они имеют фрагментарную организацию, фрагменты этих генов разбросаны по хромосоме во многих экземплярах. Они собираются вместе в функционирующий ген случайным образом в ходе развития плазматической клетки перед началом транскрипции. При этом число возможных комбинаций выражается в миллионах вариантов функционирующего гена.

Как отмечалось выше, легкая и тяжелая цепь иммуноглобулина, так же как рецепторов В- и Т-лимфоцнтов, состоит из С-(константного) и V-(вариабельного) участков. С-участок в данном организме относительно неизменен во всех антителах и рецепторах. Изменчивость V-доменов, обусловливающих иммунологическую специфичность антигенраспознающих участков легких и тяжелых цепей антител и рецепторов лимфоцитов, связана с фрагментарной структурой их генов.

В гене для легкой цепи типа λ имеется два V-сегмента ДНК, которые контролируют большую часть вариабельного домена и четыре сегмента, контролирующих константный участок иммуноглобулина. С-сегмент соединяется с V-сегментом при помощи короткого J-сегмента (англ. *joining* — соединяющий). Для легких цепей типа к существует несколько сотен V-сегментов ДНК, четыре J-сегмента и один С-сегмент.

Гены тяжелых цепей еще больше раздроблены. Наряду с V-, С- и J-сегментами они имеют 20 D-сегментов (англ. *diversity* — разнообразие). Эти три набора сегментов ДНК (два для легких в цепей λ и к и один для тяжелой цепи) расположены на трех разных хромосомах. Гены иммуноглобулиновых рецепторов В-лимфоцитов имеют идентичную организацию, а гены рецепторов Т-лимфоцитов устроены аналогично генам тяжелых цепей.

Подобная фрагментарная структура генов, контролирующих образование вариабельных доменов, может обеспечить огромное многообразие специфических антител и рецепторов лимфоцитов (рис. 15.6).

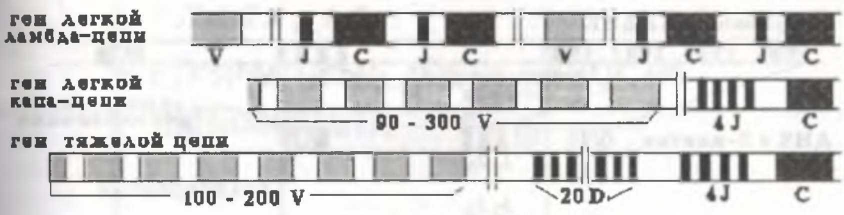


Рис. 15.6. Гены антител.

Гены антител имеют фрагментарную организацию. Их сегменты находятся в геноме на расстоянии друг от друга. В антителах легкие цепи бывают 2-х типов. У мыши для легких цепей типа лямда имеются 2 V-сегмента, которые кодируют большую часть вариабельного домена, и 4 C-сегмента. Перед началом каждого C-сегмента находится короткий фрагмент ДНК, называемый J-сегментом, он может соединяться с V-сегментом. Каждый V-сегмент может соединяться с любой парой J-C. Для легких цепей типа каппа существует несколько сотен V-сегментов, 4 J-сегмента и 1 C-сегмент. Гены тяжелых цепей организованы так же, но еще более раздроблены: помимо сегментов V и J есть еще около 20 D-сегментов. Эти три набора сегментов расположены на 3-х разных хромосомах. Гены рецепторов T-клеток организованы подобно генам тяжелых цепей антител.

Так, например, тяжелая цепь иммуноглобулина состоит из четырех сегментов C, V, D и J. Каждый константный C-сегмент контролируется одним участком ДНК, J-сегмент — четырьмя участками, V-сегмент— 10 участками, а D-сегмент—более чем 100 участками ДНК. Простой расчет показывает, что общее число вариантов нуклеотидных последовательностей, которые возникают при сборке полного гена, равно 4000 ($4 \times 10 \times 100 = 4000$). При этом существует 12 J-сегментов, 2 D-сегмента, более 20 V-сегментов и 3 C-сегмента. Исходя из представленных данных, число возможных комбинаций равняется 1440 ($12 \times 2 \times 20 \times 3 = 1440$).

Итого $4000 \times 1440 = 5$ млн. вариантов генов контролируют образование одной цепи и столько же вариантов генов — другой. Всего 10 млн. вариантов генов. Однако их число возрастает из-за нестандартности соединения J-, D- и V-сегментов (рис. 15.7).

Рекомбинации в иммуноглобулиновых генах завершаются к тому моменту дифференциации, когда клетки впервые встречаются с антигенами. К этому моменту образуется популяция клеток с широким диапазоном специфичности. С конкретным антигеном взаимодействуют только адекватные клетки, несущие комплементарные рецепторы, которые начинают быстро пролиферировать.

Затем, уже во время пролиферации отобранных клонов антителопродуцирующих клеток, включается мутационный механизм, изменяя в отдельных местах нуклеотидные последовательности. Мутации осуществляют тонкую настройку рецепторов лимфоцитов путем создания таких генов, продукты которых лучше подходят для взаимо-

Рис. 15.7. Сборка гена иммуноглобулина.

Вначале соединяются случайно выбранные сегменты V и J, а расположенные между ними «выбрасываются». Затем по всей длине от начала V2 и до конца C ДНК транскрибируется. Образующаяся РНК подвергается сплайсингу. Полученная мРНК транслируется в белок

действия с данным антигеном. Если комбинаторный механизм дает 10 млн. типов иммуноглобулиновых рецепторов, то после соматических мутаций их число возрастает в 100 раз. Это более чем достаточно для обеспечения известного на сегодняшний день разнообразия специфичности антител и рецепторов В- и Т-лимфоцитов.

Вопросы для самоконтроля

1. Какова структура молекулы иммуноглобулина?
2. Каковы особенности строения и функций иммуноглобулинов разных классов?
3. Дайте объяснение разнообразию специфичности антител и рецепторов Т- и В-лимфоцитов разных классов.
4. Структура и функции антиглобулиновых антител.
5. Чем отличаются моноклональные антитела от поликлональных.
6. Генетический контроль иммунного ответа.
7. Что представляет собой суперсемейство иммуноглобулинов?
8. Охарактеризуйте строение молекулы иммуноглобулина, роль ее доменов и активного центра.
9. Назовите особенности структуры и функций пяти основных классов иммуноглобулинов.
10. Что представляют собой антиидиотиповые антитела?
11. Что представляют собой рецепторы для антигенов В- и Т-лимфоцитов?
12. Как формируется разнообразие специфичностей антител и рецепторов лимфоцитов, определяющее способность организма распознать любой антиген?
13. Для чего применяют моноклональные антитела?

ГЛАВА 16

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИММУНИТЕТА

В онтогенезе иммунной системы человека отчетливо различаются несколько периодов (табл. 16.1).

Разумеется, в таблице приведены средние возрастные границы зрелости и старости. Как видно, процесс становления зрелой иммунной системы начинается в эмбриональной стадии развития и завершается одновременно с формированием гормонального статуса взрослого человека.

Кроме того, у детей и женщин время от времени закономерно возникают критические состояния, которые связаны либо с первичными морфо-функциональными изменениями в иммунной системе, либо с резкой перестройкой эндокринной и других систем целостного организма.

Критические моменты неоднократно проявляются у женщин, проходящих через специфические физиологические состояния — беременность, роды, вскармливание, менопауза.

Таблица 16.1

Основные периоды онтогенеза иммунной системы

Период	Характеристика	Сроки
I	Закладка первичных органов и начальная дифференциация клеток иммунной системы	6 нед. – 9 мес. (эмбрион-плод)
II	Совершенствование и формирование зрелой иммунной системы	С момента рождения до 16–18 лет
III	Зрелость, максимальная функциональная активность иммунной системы	От 16–18 до 55–60 лет
IV	Старение, снижение функции иммунной системы	После 55–60 лет

16.1. ВНУТРИУТРОБНЫЙ ПЕРИОД

В антенатальный период (т.е. до рождения) происходит закладка и дифференцировка основных органов и клеток иммунной системы. Уже с 6–8 недели начинается закладка, а затем постепенное функциональное совершенствование Т- и В-систем иммунитета. Иммунный аппарат эмбриона и плода весьма чувствителен к повреждающим воздействиям химической (лекарства, наркотики и др.), биологической (инфекции), физической (радиация, механические воздействия) природы. Последствия этих повреждений могут проявиться уже после рождения в форме врожденной иммунопатологии (иммунодефицит, аллергия, аутоиммунитет).

Весьма важным не только в теоретическом, но и в практическом плане является вопрос об *иммунных взаимоотношениях плода и матери.*

В иммунной системе женщины в период беременности происходят существенные физиологические изменения, что обусловлено развитием плода и радикальными эндокринными сдвигами. Имплантация оплодотворенной яйцеклетки в матке (0–15 сут.) с последующим развитием эмбриона (16–75 сут.) до сих пор недостаточно объяснена с иммунологических позиций, поскольку в их составе присутствуют несколько групп чужеродных антигенов (аллоантигены). Главнейшими из них являются антигены отца и так называемые эмбриональные антигены. Последние через определенное время элиминируются.

Казалось бы, иммунная система матери должна ответить естественной реакцией отторжения гистонесовместимых клеток. Однако ни на первых этапах оплодотворения, ни в процессе прикрепления оплодотворенной яйцеклетки к стенке матки полного уничтожения сперматозоидов или блокирования имплантации, как правило, не наблюдается. Почему? Этому дают несколько объяснений.

Во-первых, факторы местной защиты слизистых женских половых органов (секреторные Ig A, лизоцим и другие ферменты) весьма умеренно реагируют на мужские половые клетки.

Во-вторых, факторы системной иммунореактивности — сывороточные антитела и Т-киллеры — малоэффективны из-за относительной изолированности женских половых путей от общего кровотока. Наконец, в семенной жидкости мужчин содержатся вещества, ингибирующие иммунные реакции.

И в дальнейшем иммунная система беременной женщины проявляет терпимость к чужеродным антигенам в составе развивающегося плода. Толерантность в этот период обусловлена следующими обстоятельствами:

1. Трофобласт, как плацентарный барьер, изолирует кровоток плода от кровотока матери. Концентрация антигенов гистосовместимос-

ти плода на трофобласте очень мала. Таким образом, малоантигенные клетки трофобласта изолируют иммуногенные клетки плода.

2. Плацента и плод синтезируют группу белковых и небелковых веществ, которые активно подавляют реакции отторжения.

3. В организме беременной женщины происходит перестройка цитокиновой регуляции иммунных процессов, в результате запускается избирательная супрессия реакций против чужеродных антигенов плода. При этом сохраняется иммунореактивность против всех других антигенов, в том числе бактериальных и вирусных.

4. Плацента ограждает плод от проникновения B- и T-лимфоцитов матери на ранних этапах развития эмбриона.

Вместе с тем организмы матери и плода не пассивны в плане взаимной регуляции иммунных отношений. Так, материнские антитела класса IgG свободно проникают через плаценту. Антитела всех других классов — IgM, IgA, IgE, IgD — такой способностью не обладают. Дело в том, что их Fc-участки, в отличие от Fc IgG, не обеспечивают связывание с комплементарными рецепторами клеток трофобласта и дальнейший мембранный транспорт антител матери через плаценту. Клеточный рецептор вместе с молекулой IgG поглощается путем пиноцитоза после чего иммуноглобулин выносится в кровь плода.

Особенно активный трасплацентарный транспорт материнских иммуноглобулинов происходит в конце срока беременности. Именно этим обстоятельством объясняется очень высокий уровень IgG в крови доношенных новорожденных, часто превышающий их концентрацию в организме матери. Естественно, что у недоношенных новорожденных этот показатель существенно ниже.

Продукция собственных антител иммунной системой плода при нормальной беременности без антигенного раздражения происходит, но с очень низкой интенсивностью. Уже с 10-й недели начинается синтез IgM, с 12-й — IgG, с 30-й — IgA, но концентрация их невелика. Таким образом, к моменту рождения здорового ребенка основную массу антител в его организме составляют материнские IgG. Защитный спектр их весьма широк и направлен преимущественно против разнообразных инфекционных агентов.

Вместе с тем еще на внутриутробной стадии развития организма иммунная система реагирует на чужеродные антигены — бактериальные, вирусные и другие — усиленным синтезом преимущественно IgM-антител. Такова особенность иммунной реакции плода на инфекционные, а также иные чужеродные антигены. Этот феномен имеет важное практическое значение: *повышенный уровень IgM в пуповинной крови новорожденного — индикатор внутриутробной антигенной стимуляции*, чаще всего результат перенесенной внутриутробной инфекции. Эти инфекции опасны длительной персистенцией их возбудителей в организме плода с резкой

активацией инфекционного процесса в раннем постнатальном периоде жизни ребенка.

Большой интерес представляет реакция иммунной системы матери против аллоантигенов плода, которые проникают время от времени в кровь матери. В частности, есть доказательства такого перехода эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов плода и антигенов трофобласта. Против аллоантигенов указанных клеток и тканей вырабатываются материнские антитела, но только антитела класса IgG, как показано выше, способны проникать через плаценту в организм плода. При этом возможно повреждение IgG-антителами клеток плода с развитием гемолитической болезни, аллоиммунной нейтропении, тромбоцитопенической пурпуры у новорожденных и других осложнений.

В других случаях проникновение аллоантигенов плода в организм матери приводит не к стимуляции гуморального иммунного ответа, а напротив, к развитию иммунологической толерантности к этим аллоантигенам.

До сих пор нет достаточно четкого объяснения механизмов, которые определяют характер и направление иммунного ответа матери на антигены развивающегося плода.

Что касается Т-клеточной реакции матери, то она также развивается, но не представляет угрозы для плода. Т-клетки не способны проникнуть из организма матери через плаценту к плоду.

Онтогенез неспецифических факторов резистентности характеризуется довольно ранними сроками их становления в организме плода. Начало синтеза некоторых фракций комплемента (С3, С4, С5), интерферона, лизоцима относится к 8–9 неделям беременности. Примерно в эти же сроки формируются фагоцитирующие клетки. Однако функциональная активность гуморальных и клеточных факторов неспецифической реактивности даже к моменту рождения очень низка. В основном это связано с несовершенством метаболизма клеток, ответственных за синтез эффекторов соответствующих реакций.

16.2. ИММУННАЯ СИСТЕМА НОВОРОЖДЕННЫХ, ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

Второй период развития иммунной системы (после рождения) характеризуется дальнейшим постепенным ее совершенствованием под воздействием разнообразных факторов внешней и внутренней среды организма. Наибольшее значение для полного созревания материального субстрата иммунной системы и тренировки ее функциональных возможностей имеют антигенные стимулы со стороны микрофлоры и других экзоантигенов.

На протяжении всего времени развития детей и подростков происходит адаптация систем и звеньев иммунной системы к динамичным условиям внешней среды, а также координация иммунологичес-

ких механизмов с нейроэндокринной регуляцией функций организма. Несмотря на кажущуюся анатомическую обособленность иммунных органов и клеток, они являются частью целостного организма. Не только патология иммунитета отражается на работе других органов и систем, но и иммунная система реагирует в большей или меньшей мере на патологию других систем организма. Особенно она чувствительна к метаболическим нарушениям, которые вносят дисбаланс в физиологию иммунокомпетентных клеток, извращают продукцию цитокинов.

Понятно, что пока в основном не завершится процесс становления иммунной системы (до 16–18 лет), воздействие неблагоприятных химических, биологических и физических факторов вызывает более глубокое нарушение иммунитета, чем в зрелом возрасте.

В иммунной системе детей, от момента рождения до периода зрелости, закономерно происходят критические морфофункциональные сдвиги. Эти этапные моменты в онтогенезе иммунной системы совпадают с переходными периодами общего развития детского организма. Иногда их образно называют вехами, или верстовыми столбами *(milestones)*.

Первый иммунный кризис по времени совпадает с периодом новорожденности, когда организм впервые встречается с огромным количеством чужеродных антигенов. Не случайно этот драматический момент жизни иногда сравнивают с выходом космонавта в открытый космос. Лимфоидная ткань, клетки, ответственные за механизмы неспецифической реактивности, получают колоссальный стимул для развития уже в первые часы. Разнообразная микрофлора активно колонизирует желудочно-кишечный тракт, дыхательные пути, кожу, при этом на организм обрушивается водопад антигенов. Конечно, большое значение имеет качественный состав естественной микрофлоры тела: если быстро сформируется нормальная микробиота толстого кишечника (с преобладанием бифидобактерий и других анаэробов), то развитие иммунной системы пойдет правильнее.

Физиологическое развитие лимфоидного аппарата новорожденного характеризуется быстрыми темпами заселения лимфоцитами брыжеечных, мезентериальных и других периферических лимфоузлов, увеличением их массы и нарастанием функциональной активности. В них резко возрастает концентрация плазматических клеток, синтезирующих иммуноглобулины.

Отставание в развитии лимфоидной системы отмечено у детей, рожденных при помощи операции кесарева сечения. При этом заселение полостей организма микрофлорой происходит с существенной задержкой, к тому же качество этой микрофлоры отличается от приобретенной при нормальных родах.

Показано на животных, выращенных в безмикробных условиях (гнотобионтах), что их лимфоидный аппарат недостаточно развит из-за отсутствия антигенной стимуляции.

Только после рождения впервые активно и широко включаются механизмы иммунного реагирования Т- и В-систем. Однако в этих реакциях *преобладает супрессорный компонент*, потому что процесс антителообразования (реакция В-системы) и цитотоксические реакции Т-клеток еще развиты недостаточно.

Интересно отметить, что количество Т- и В-клеток в крови новорожденных чаще всего соответствует их содержанию у взрослых.

Главное отличие — функциональная неполноценность регуляторных и исполнительных клеток из-за несовершенства системы цитокиновой регуляции иммунной системы у детей раннего возраста.

Как было отмечено выше, иммунная регуляция осуществляется противовоспалительными цитокинами — ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12, фактором некроза опухоли (ФНО), альфа- и гамма-интерферонами и др., а также цитокинами, непосредственно регулирующими направление и спектр иммунного ответа (ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-7). Другие участвуют на этапе более ранней регуляции миеломоноцитопоэза и лимфопоэза (ИЛ-3, колониестимулирующие факторы). В разных ситуациях некоторые цитокины способны осуществлять противоположные эффекты, что свидетельствует о широком спектре их физиологических функций. Механизмы функционирования многокомпонентного ансамбля цитокинов, участвующих в регуляции системы, еще недостаточно изучены.

Однако уже сейчас можно с уверенностью говорить о том, что слаженная работа клеток иммунной системы зависит, с одной стороны, от эффективности синтеза этих цитокинов разнообразными продуцентами (макрофаги, моноциты, Т- и В-клетки, ЕК-клетки, эпителиальные клетки, фибробласты, стромальные клетки костного мозга и др.), с другой — от способности чувствительных клеток иммунной системы воспринимать цитокиновые сигналы и адекватно отвечать на них. Это зависит от качества экспрессии на мембранах клеток соответствующих рецепторов.

Естественно, что для созревания сложной системы цитокиново-клеточной иммунной регуляции системы требуются годы.

Если судить по внешним проявлениям, то для периода новорожденности характерен слабый иммунный ответ на антигены из-за незрелости Т- и В-лимфоцитов, а также в связи с функциональной слабостью фагоцитоза (мала концентрация опсонинов в крови, снижен процессинг антигенов макрофагами, что ведет к невыразительной антигенной презентации). Еще недостаточно развиты естественные киллеры (ЕК-клетки). Этим, в частности, объясняется низкий уровень гамма-интерферона.

В силу несостоятельности иммунной системы ребенка раннего возраста основные защитные функции выполняют пассивно приобретенные сывороточные и секреторные антитела. Сывороточные антитела в основном представлены материнским IgG, которые совершили трансплацентарный переход в эмбриональной стадии. Часть сывороточных иммуноглобулинов диффундирует из материнского молока в кровоток ребенка из кишечника. При инфицировании иммунная система новорожденного способна к первичному гуморальному иммунному ответу с преимущественным синтезом IgM, иммунологическая память еще не функционирует.

Секреторные иммуноглобулины, в основном в виде SIgA, в большом количестве поступают с материнским молоком и осуществляют функцию местного иммунитета в желудочно-кишечном тракте.

В целом для новорожденных характерна низкая резистентность по отношению к различным бактериям, особенно к условно-патогенной, гноеродной (слабый фагоцитоз), грамотрицательной (низкая активность системы комплемента и антител) микрофлоре. В этот период отмечается опасная тенденция генерализации гнойно-воспалительных инфекций с переходом в сепсис.

Второй критический период в иммунном статусе ребенка приходится на возраст 3–6 мес. Он характеризуется постепенным ослаблением пассивного гуморального иммунитета из-за уменьшения концентрации материнских иммуноглобулинов, полученных еще в эмбриональном периоде. Полное исчезновение молекул материнских антител происходит значительно позднее. Высокочувствительные методы иммунного анализа обнаруживают их до 18 мес., что имеет определяющее значение при решении вопроса о происхождении антител к возбудителю СПИДа в крови ребенка.

В это время на фоне сокращения запаса материнских антител и преобладания супрессорной реакции иммунной системы младенца могут проявляться скрытые до сих пор признаки врожденных иммунодефицитов, нередко развивается ранняя иммунопатология в виде пищевой аллергии.

Из-за отсутствия местного иммунитета слизистых и слабого Т-клеточного иммунного ответа дети остаются высокочувствительными ко многим вирусам, особенно поражающим дыхательные пути.

На вакцинацию организм ребенка 1-го года жизни отвечает в основном продукцией IgM-антител, без формирования иммунологической памяти. Чтобы получить нормальный вторичный иммунный ответ с IgG-антителами и стойкой иммунологической памятью, требуется 2–3 ревакцинации против столбняка, дифтерии, коклюша, полиомиелита.

Постепенное совершенствование иммунной системы организма приводит к тому, что к концу 1-го года жизни ряд ее функций норма-

лизуется. В частности, концентрация лимфоцитов в крови достигает максимума, хелперная функция уже доминирует над супрессорной, начинается более активный синтез собственного IgG.

Однако, способность к полноценному синтезу антител класса IgG, соответствующего уровню взрослых, появляется только к 4–6 годам. Особенно долго налаживается продукция антител субклассов IgG_2 и IgG_4. Местный иммунитет слизистых дыхательных путей и пищеварительного тракта, который обеспечивается сочетанным действием секреторных антител класса IgA и неспецифических гуморальных факторов (лактоферрина, лизоцима, ионов тиоцианата, лактопероксидазы) окончательно формируется только к 7–8 годам жизни.

Клинические иммунологи дополнительно выделяют критические зоны в возрасте двух лет и 4–6-го годов жизни ребенка. В двухлетнем возрасте, когда дети активно передвигаются и все шире контактируют с окружающей средой, собственный иммунитет еще далеко не совершенен, а факторы пассивного иммунитета уже отсутствуют. В это время могут рельефно проявиться малые врожденные дефекты иммунного статуса, а также иные варианты иммунопатологии — аутоиммунный диатез, иммунокомплексные болезни. Часто наблюдаются повторные вирусно-бактериальные инфекции органов дыхания и кишечного тракта.

С первой недели жизни до 4–6 лет формула крови характеризуется абсолютным и относительным лимфоцитозом (физиологический лимфоцитоз). Только к 6 годам у всех детей определяется «взрослый» тип формулы крови. Перестройка гемопоэза у ряда детей может сопровождаться новым учащением иммунопатологических состояний, аллергий, проявлением поздних врожденных иммунодефицитов.

Таким образом, в возрасте 2 и 4–6 лет есть риск развития заболеваний преимущественно у детей с врожденной патологией какого-либо звена иммунитета.

Третий иммунный кризис в жизни всех детей связан с резкой гормональной перестройкой организма подростков. У девочек этот этап начинается с 12–13 лет, у мальчиков — с 14–15 лет. В иммунной системе при этом происходят следующие изменения:

1. уменьшается масса лимфоидных органов, что связано с пубертатным скачком роста и веса детей;
2. подавляется функция Т-системы (клеточный иммунитет);
3. стимулируется функция В-системы (гуморальный иммунитет).

Сдвиги в функции иммунитета обусловлены повышенной секрецией половых гормонов. При этом отмечается половое различие в характере этих сдвигов. *У юношей андрогенная стимуляция вызывает увеличение абсолютного числа В-лимфоцитов ($CD\ 19^+$). У девушек усиление гуморального звена иммунитета связано с повышением количества и активизацией Тх2.*

Как показано в главе 12, субпопуляции Т-хелперов дифференцируются из Тх0 под влиянием разных интерлейкинов, одни из них —

ИЛ-12, γ-интерферон — стимулируют созревание Тх1, другие (ИЛ-4) ингибируют дифференциацию Тх0 в Тх1 и способствуют формированию Тх2.

Таким образом, цитокиновая регуляция осуществляет систему «сдержек и противовесов», гармонизируя физиологический баланс клеточного и гуморального звеньев иммунитета путем стимуляции или ингибиции дифференциации Тх0 в Тх1 или в Тх2.

В антиинфекционной защите организма функции распределяются следующим образом:

1. клеточное звено иммунного ответа (линия Тх0–Тх1 с активацией цитотоксических лимфоцитов) преимущественно защищает от внутриклеточных паразитических агентов — вирусов, некоторых бактерий, грибков и простейших;

2. гуморальное звено иммунного ответа (линия Тх0–Тх2 с активацией В-лимфоцитов) гарантирует эффективную защиту от внеклеточных паразитов — бактерий и токсинов.

Такой резкой иммунный поворот в пубертатном периоде совпадает с новым подъемом хронических заболеваний лимфопролиферативной и аутоиммунной природы, при этом активизируются дремлющие вирусные инфекции и присоединяются новые. Иммунная система становится чувствительной к действию внешних факторов химической, физической и биологической природы.

В это время устанавливается тот фенотипический вариант иммунного статуса, который впоследствии будет определять сильный или слабый тип иммунного ответа организма взрослого человека на различные антигенные стимулы. Вместе с тем у большинства подростков аллергические заболевания протекают уже легче, чем раньше.

В течение нескольких лет происходит постепенное выравнивание всех систем иммунорегуляции с выходом на «взрослый» фенотип иммунного статуса. Его принято считать наиболее адекватным тем вызовам, которые бросает среда обитания организму человека. Существенных различий в иммунной системе женщин и мужчин не отмечается.

16.3. ИММУННЫЕ ФАКТОРЫ ГРУДНОГО ЖЕНСКОГО МОЛОКА

Грудное женское молоко является идеальной пищей для детей раннего возраста. В нем есть все компоненты, необходимые для организма развивающегося ребенка — белки, аминокислоты, жиры, углеводы, комплекс витаминов, минеральные вещества, гормоны, разнообразные факторы иммунной защиты и неспецифической резистентности.

Только естественное вскармливание материнским молоком обеспечивает максимально возможную для этого возраста резистентность к возбудителям инфекционных болезней, к аллергенам, вообще к разнообразным аллоантигенам. По сравнению с детьми, находящимися на грудном молочном вскармливании, дети, переведенные на искусственное вскармливание, страдают от инфекций в 4 раза чаще, а от кишечных инфекций в 10 раз чаще.

Природа волшебного действия грудного молока кормящей женщины заключается в сумме разнообразных иммунных факторов прямого и опосредованного действия.

Иммуноглобулины женского молока. Они представлены классами G, M и A, однако доминирующим является секреторный IgA (SIgA).

SIgA синтезируется B-лимфоцитами в лимфоидных тканях молочной железы женщины и поступает в молоко. Незадолго до конца беременности в молочную железу мигрируют иммунокомпетентные B-клетки из лимфоидных образований кишечника, дыхательных путей и другой локализации. В лимфоидной ткани молочной железы они размножаются (феномен колонизации иммунных клеток) и начинают активно синтезировать SIgA антитела той же специфичности, что и раньше — против возбудителей острых инфекций кишечного, респираторного тракта, мочеполовых путей.

Процесс переселения B-клеток, продуцирующих SIgA различной специфичности, стимулируется и контролируется гормонами и цитокинами. Продукция SIgA иммунной системой кормящей матери идет настолько интенсивно, что уровень этих иммуноглобулинов в крови женщины возрастает в 5 раз.

Динамика концентрации SIgA в грудном молоке здоровой матери в первую неделю после родов определенным образом связана со сроками созревания молока. Отечественная школа педиатров определяет следующие временные параметры: для *молозива* — первые 2–3 дня после родов, затем наступает фаза *переходного молока* — до 6–7 дня, а с начала 2-й недели — *зрелого молока.*

Молозиво по составу почти идентично тканям новорожденного и поэтому легко усваивается. Это густая, желтоватая жидкость с очень высокой концентрацией белка, аминокислот, липидов и других компонентов. По мере созревания их процентное содержание снижается.

При раннем прикладывании ребенка к груди он сразу получает порции молока с большим содержанием секреторных иммуноглобулинов класса A, лизоцима, лактоферрина, лактопероксидазы, бифидогенных факторов и других веществ, стимулирующих колонизацию кишечника защитной микрофлорой.

Изменение содержания IgA в грудном молоке в целом соответствует указанным выше срокам его созревания. В молозиве отмечен максимальный уровень SIgA — 12–16 мг/мл, со 2–3 дня лактации его

уровень быстро снижается и к концу первой — началу второй недели стабилизируется на цифре 0,6–1 мг/мл. Такая концентрация SIgA удерживается в зрелом молоке на протяжении 8–9 мес. При неоднократном вскармливании в организм ребенка ежедневно поступает 600–1000 мг SIgA. Секреторный иммуноглобулин, в отличие от сывороточных иммуноглобулинов разных классов, стабилен при низком уровне pH кишечника и не подвергается ферментативному расщеплению кишечными протеазами.

SIgA локализуется в муциновом слое слизистых оболочек желудочно-кишечного такта. Защитная роль SIgA заключается в экранировании эпителия пищеварительного тракта от чужеродных антигенов инфекционного и неинфекционного порядка. Эта функция реализуется путем специфического связывания секреторными антителами бактерий, вирусов, токсинов и других аллоантигенов. В результате предотвращается адгезия и колонизация бактерий, проникновение в клетки и кровоток вирусов и некоторых инвазивных микробов.

Секреторные антитела класса IgA — главный фактор местного иммунитета пищеварительного тракта против разнообразных энтеропатогенных бактерий, вирусов и токсинов.

Усилению барьерной функции слизистой кишечника ребенка способствуют и другие гуморальные факторы грудного молока — *лизоцим, лактоферрин* (он связывает железо, уменьшая его потребление патогенными бактериями), *комплемент, пропердин, лактопероксидаза*. Показано, что комплекс лактопероксидазы с ионами тиоционата и H_2O_2 эффективно ингибирует рост и размножение патогенных бактерий на эпителии слизистых пищеварительного, дыхательного и мочеполовых путей.

От уровня барьерной функции слизистой желудочно-кишечного тракта в значительной мере зависит риск возникновения пищевых аллергических реакций. Если барьер слаб, то в кровь начинают всасываться цельные белки и недостаточно расщепленные пептиды, что провоцирует аллергические расстройства у детей.

В грудном молоке содержатся также *сывороточные иммуноглобулины классов M, G, A* (их уровень существенно ниже, чем уровень SIgA), *макрофаги, ЕК-клетки, В- и Т-лимфоциты, иммуноцитокины* (интерлейкины, интерферон и др.). Роль этих факторов еще мало изучена.

Вместе с тем замечено, что вскармливание нативным грудным молоком существенно активирует процесс становления иммунного статуса ребенка, из крови быстрее элиминируются малодифференцированные формы клеток, созревание лимфоцитов протекает более энергично.

Уникальный состав иммунных факторов женского молока, к сожалению, весьма нестоек к термическому воздействию. Даже мягкая

пастеризация грудного молока (63°С в течение 30 мин.) инактивирует иммуноглобулины, комплемент, лизоцим, другие ферменты, разрушает клетки.

Поэтому использование *пастеризованного* донорского женского молока, равно как и вскармливание различными искусственными смесями, частично позволяет решить задачи питания, но не предупреждает развития дисбактериоза кишечника и острых кишечных инфекций у детей 1-го года жизни.

16.4. ИММУННАЯ СИСТЕМА ПРИ СТАРЕНИИ

С возрастом у большинства лиц после 55–60 лет наблюдается постепенное, все более глубокое угнетение иммунитета. Скорость этого процесса имеет сугубо индивидуальный характер.

Доказано, что абсолютное количество Т- и В-клеток при этом не снижается, однако изменяется их функциональная активность. У лиц старческого возраста (после 80 лет) особенно страдают функции Т-системы иммунитета, в частности, способность распознавания аллоантигенов макрофагами и лимфоцитами, угнетена активность хелперных Т-клеток (как Тх2, так и Тх1), извращена супрессорная функция иммунной системы. Весьма вероятен дисбаланс в системе цитокиновой регуляции иммунных реакций (применительно к пожилым эта проблема еще мало исследована).

В связи с расбалансировкой системы физиологической иммунорегуляции при старении возрастает частота злокачественных образований и аутоиммунных нарушений.

Ко всему прочему, из-за снижения активности метаболических процессов в фагоцитах и других клетках, ответственных за функцию неспецифической антиинфекционной реактивности, у пожилых лиц учащаются хронические и вялотекущие бактериальные, вирусные и грибковые инфекции.

Таким образом, типичные болезни старческого возраста непосредственно связаны с подавлением иммунореактивности вследствие глубоких изменений в популяционной структуре Т-клеток и их функций, а также из-за снижения активности клеток, участвующих в реализации неспецифических клеточных и гуморальных реакций.

Вопросы для самоконтроля

1. Назовите 4 основные периода онтогенеза иммунной системы человека.
2. Когда начинается закладка тимуса и других центральных органов иммунной системы человека?
3. Какой иммунологический показатель может служить индикатором инфицирования плода и новорожденного?

4. Назовите сроки трех критических периодов в развитии иммунной системы детей и объясните их происхождение.

5. В каком возрасте иммунную систему человека можно считать окончательно сформировавшейся?

6. Перечислите основные иммунные факторы женского молока.

7. Охарактеризуйте генез секреторных IgA в грудном женском молоке, их динамику в первые дни лактации, место и роль в защите организма ребенка от инфекций?

8. Охарактеризуйте особенности иммунитета у лиц пожилого возраста, опишите типичные клинические проявления.

ГЛАВА 17

МЕХАНИЗМЫ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУНИТЕТА В ПРОТИВОИНФЕКЦИОННОЙ ЗАЩИТЕ ОРГАНИЗМА

Специфический иммунный ответ развивается в организме параллельно с развитием инфекции или после вакцинации и приводит к формированию ряда специфических эффекторных механизмов (клеточных и гуморальных) противоинфекционной защиты. Действие этих механизмов направлено против возбудителя, его компонентов и продуктов жизнедеятельности.

К этим механизмам относятся эффекторные молекулы (антитела — Ig) и эффекторные клетки (Т-лимфоциты и макрофаги) иммунной системы. Антитела, специфически взаимодействуя с антигенными детерминантами (эпитопами) на поверхности микроорганизмов, образуют с ними иммунные комплексы, что ведет к активации мембраноатакующего комплекса системы комплемента и лизису микробных клеток. Кроме того, иммунные комплексы, включающие микроорганизмы и специфические антитела, быстрее и легче захватываются фагоцитирующими клетками организма при участии Fc-рецепторов. При этом ускоряется и облегчается внутриклеточная гибель и переваривание. Защитная роль антител в антитоксическом иммунитете определяется также их спобностью нейтрализовать токсины.

Секреторные иммуноглобулины класса А обеспечивают местный специфический иммунитет слизистых оболочек, препятствуя прикреплению и проникновению патогенных микроорганизмов.

Вместе с тем гуморальная защита малоэффективна против внутриклеточно паразитирующих бактерий, риккетсий, хламидий, микоплазм, грибов, простейших и вирусов. Против этих возбудителей более эффективны клеточные механизмы специфического иммунитета, к которым относится иммунное воспаление — реакция гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) и цитотоксическая активность Т-киллеров, ЕК-клеток, макрофагов. В очаге иммунного воспаления Т-эффекторы ГЗТ, активированные при контакте с микробными антигенами, продуцируют лимфокины, индуцирующие микробоцидные

механизмы фагоцитов. В результате усиливается внутриклеточная гибель захваченных фагоцитами возбудителей.

Гибель клеток-«мишеней» вместе с паразитирующими в них возбудителями может наступить вследствие их распознавания Т-киллерами, специфически сенсибилизированными против микробных антигенов.

Другой механизм гибели зараженных клеток носит название *антителозависимой цитотоксичности* (АЗЦТ). Он заключается в распознавании микробных антигенов на мембране зараженной клетки-«мишени» антителами, адсорбированными на Fc-рецепторах NK-клеток или макрофагов. При этом цитотоксичность является результатом действия лизосомных ферментов и других продуктов секреции данных клеток.

В целом клеточные механизмы обеспечивают защиту организма против факультативно и облигатно внутриклеточных паразитов, что позволяет оценивать напряженность специфического иммунитета по результатам кожно-аллергических реакций. Этим же объясняется и тот факт, что наиболее эффективными для специфической профилактики таких инфекций являются вакцины из живых ослабленных микроорганизмов, активирующие клеточные механизмы иммунитета. Для пассивного переноса специфического иммунитета против соответствующих инфекций могут быть использованы препараты «фактора переноса», приготовленные из лейкоцитов иммунизированного донора.

17.1. ОСОБЕННОСТИ ИММУНИТЕТА ПРИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

В зависимости от особенностей патогенеза бактериальной инфекции иммунитет может быть или антибактериальным, или антитоксическим. Способность бактерий продуцировать в окружающую среду белковые токсины — экзотоксины, которые играют основную роль в патогенезе таких инфекций, как дифтерия, столбняк, ботулизм и др., приводит к формированию антитоксического иммунитета. Напряженность антитоксического иммунитета зависит от количества антител, циркулирующих в крови, которое можно определить с помощью реакций флоккуляции и нейтрализации токсина антитоксином in vitro или in vivo (*см. 19.2.2*).

Основным механизмом антибактериальной защиты является фагоцитоз (*см. 12.3*). В иммунном организме эффективность фагоцитоза повышается за счет опсонизирующего действия специфических антител и активирующего действия цитокинов. Первое объясняется способностью антител взаимодействовать с антигенными детерминан-

тами (эпитопами) на поверхности бактерий и одновременно прикрепляться к Fc-рецепторам на мембране фагоцитов (*см. рис. 12.2*). Это приводит к окислительному взрыву и активации других бактерицидных систем фагоцитирующих клеток.

В результате интенсивной внутриклеточной гибели захваченных фагоцитами бактерий происходит постепенное очищение от них организма. Этому способствуют механизмы внеклеточного иммунного лизиса бактерий — бактериолиза, который связан с активацией системы комплемента комплексами бактерий со специфическими антителами.

Повышенной устойчивостью к внутриклеточной гибели после фагоцитоза отличаются бактерии из числа факультативных внутриклеточных паразитов (микобактерии туберкулеза, бруцеллы, сальмонеллы и др.). Их способны убить лишь макрофаги, активированные цитокинами в очаге иммунного воспаления, возникающего в результате реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) (*см. 18.2*). Поэтому напряженность антибактериального иммунитета при такого рода инфекциях измеряется оценкой не гуморального, а клеточного иммунитета путем постановки кожно-аллергических проб.

Выявление специфических антител в сыворотке крови больного при большинстве бактериальных инфекций используется для их серодиагностики. Даже если эти антитела и не определяют уровня защиты при антибактериальном иммунитете, динамика их накопления отражает в какой-то мере динамику специфического иммунного ответа на бактериальные антигены.

Антибактериальная защита слизистых оболочек обеспечивается секреторными антителами класса А, которые, взаимодействуя с поверхностными антигенными структурами бактерий, препятствуют их адгезии на эпителиальных клетках.

Приобретенный антибактериальный иммунитет, как правило, является типоспецифическим и нестойким. Этим объясняются частые случаи повторных заболеваний бактериальными инфекциями.

17.2. ОСОБЕННОСТИ ИММУНИТЕТА ПРИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

Особенности вирусов как облигатных внутриклеточных паразитов определяют характер иммунитета при вирусных инфекциях. Специфические антитела против вирусных антигенов могут нейтрализовать внеклеточные формы — вирионы, препятствуя их взаимодействию с клетками организма. Против внутриклеточных форм — вирусов — антитела неэффективны. Наиболее существенно действие секреторных антител класса А, обеспечивающих местный противовирусный иммунитет во входных воротах инфекции. Очевидна также

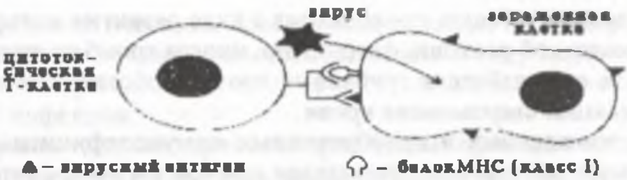


Рис. 17.1. Иммунный ответ на вирусную инфекцию

защитная роль вируснейтрализующих антител в кровяном русле в периоды вирусемии. Однако основной механизм противовирусного иммунитета связан с клеточным иммунным ответом. Поскольку клетки, зараженные вирусом, несут на своей мембране его антигенные детерминанты, они становятся клетками-«мишенями» для Т-киллеров и клеток, участвующих в реакциях антителозависимой цитотоксичности (АЗЦТ). При этом зараженные клетки погибают вместе с вирусами (рис. 17.1).

О напряженности противовирусного иммунитета судят преимущественно по нарастанию титра специфических антител в сыворотке крови больного в динамике заболевания или после специфической вакцинации. Защитные механизмы специфического, противовирусного иммунитета обеспечиваются также клетками-эффекторами (Т-киллеры, NK-клетки и другие клетки, участвующие в АЗЦТ). Специфические антитела против различных вирусных антигенов нередко присутствуют в сыворотках здоровых людей, что объясняется всеобщей иммунизацией населения против ряда вирусных инфекций (полиомиелит, корь, грипп и др.), а также возможностью скрытого (латентного) течения некоторых из них (герпес, гепатит и др.).

Особенностью взаимодействия вирусов с иммунной системой организма является способность некоторых вирусов паразитировать непосредственно в клетках иммунной системы, вследствие чего развиваются иммунодефицитные состояния инфекционной природы. За последние годы подробно изучен наиболее тяжелый иммунодефицит вирусной природы — СПИД (*см. 18.1*).

17.3. ОСОБЕННОСТИ ИММУНИТЕТА ПРИ ГРИБКОВЫХ ИНФЕКЦИЯХ

Антигенные свойства грибов в сравнении со многими бактериями менее выражены, поэтому напряженность иммунного ответа при грибковых заболеваниях (микозах) относительно невысока.

В настоящее время признано, что при микозах основные защитные механизмы обеспечиваются клеточными факторами и меньше — гуморальными. Неспецифические тканевые реакции на присутствие грибкового антигена, препятствующие проникновению патогенного

гриба в органы и ткани, проявляются в виде развития эпителиоидной гранулематозной реакции, фагоцитоза, иногда тромбоза кровеносных сосудов за счет действия грибковых протеаз, обеспечивающих ускорение реакций свертывания крови.

При врожденных и приобретенных иммунодефицитных состояниях иммунный ответ не полноценен или совсем не эффективен. При этом увеличивается опасность возникновения микозов, вызываемых условно-патогенными грибами. Например, при лейкозах возможно развитие аспергиллеза, при лимфоме и СПИДе — криптококкоза, при дисгаммаглобулинемии — кандидоза и т.д.

В случаях контакта грибкового антигена с клеточными компонентами иммунной системы при микозах развивается реакция гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), выявляемая через 10—14 дней после заражения. В составе антигенов различных патогенных (равно как и многих непатогенных) грибов имеются сходные детерминанты, снижающие специфичность аллергических проб, которые используются для диагностики грибковых заболеваний.

Титры антител (IgG, IgM) при микозах, как правило, невысоки. В сыворотках крови здоровых индивидуумов можно обнаружить нормальные антитела против некоторых грибов. Например, до 6–8% образцов донорской крови могут содержать противокандидозные антитела в титрах до 1:10. Это, как правило, обусловливается постоянным присутствием дрожжеподобных грибов рода Candida в составе нормальной микрофлоры у части здоровых людей. Повышенный уровень антител класса Е имеет место при респираторной грибковой аллергии, а секреторных антител класса А — при кандидозных вагинитах.

С внедрением различных биотехнологических процессов в производство, использующих грибы в качестве продуцентов биологически активных веществ, возрастает опасность возникновения профессиональных микозов и особенно аллергических заболеваний на фоне респираторной сенсибилизации людей спорами и фрагментами мицелия грибов Aspergillus, Candida, Fusarium, Mucor, Penicillium и др. Так, при содержании в 1 $м^3$ воздуха производственных помещений до 15 млн. грибных спор работающие там люди за 6 ч вдыхают до 170–200 млн. спор, что приводит к аллергическим заболеваниям.

17.4. ОСОБЕННОСТИ ИММУНИТЕТА ПРИ ПРОТОЗОЙНЫХ ИНВАЗИЯХ

Паразитирование простейших в организме человека и животных стимулирует функционирование гуморальных и клеточных механизмов иммунитета. Однако их протективная роль при различных протозойных инфекциях неодинакова. Она в значительной мере обус-

ловлена физиологическими особенностями самих паразитов, их жизненным циклом, а также взаимоотношениями между паразитом и хозяином, формирующимися в процессе эволюционного становления той или иной инфекции.

Как правило, паразитирование простейших приводит к появлению в крови позвоночного хозяина специфических антител IgM и IgG, которые обнаруживаются при помощи серологических реакций: связывания комплемента, иммунофлюоресценции и др.

Некоторые простейшие (например, африканские трипаносомы — возбудители сонной болезни) характеризуются высокой степенью изменчивости поверхностных антигенов, стимулирующих образование узкоспецифических антител, которые реагируют только с определенным вариантом поверхностного антигена. Повышение концентрации специфических антител ведет к элиминации трипаносом соответствующего антигенного варианта, на смену которому появляется новый антигенный вариант — и цикл повторяется. Иммунитет, защищающий от клинических проявлений малярии, вырабатывается только у лиц, достаточно долго живущих в очаге болезни и подвергающихся постоянной реинфекции посредством укусов зараженных малярийных комаров.

При лейшманиозах появление гуморальных антител IgM и IgG свидетельствует о персистировании паразита в организме хозяина в течение какого-то периода времени. При этом антитела не препятствуют успешному размножению паразитов и не оказывают заметного влияния на патогенез болезни. В отличие от сонной болезни и малярии лейшманиозы характеризуются появлением почти у всех переболевших хорошо выраженного стойкого иммунитета. Полагают, что иммунитет при лейшманиозах имеет «нестерильный» характер, т.е. связан с бессимптомным, латентным персистированием паразитов (иногда пожизненным). Развивающийся при лейшманиозах протективный иммунитет, очевидно, не связан с гуморальными антителами. В этих случаях превалирующее значение принадлежит сенсибилизированным лимфоцитам. Последние, воздействуя на макрофаги, стимулируют способность этих клеток противостоять размножению в них амастигот лейшманий. Предполагают также, что сенсибилизированные лимфоциты могут оказывать цитотоксическое действие на зараженные лейшманиями макрофаги и на паразитов, освобождающихся при их разрушении.

Активность функционирования механизмов клеточного иммунитета, с одной стороны, и состояние иммунологической толерантности — с другой, при лейшманиозах, токсоплазмозах и других протозойных инфекциях выявляют по наличию или отсутствию реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Так, например, отрицательная реакция ГЗТ, как правило, выявляется у больных ин-

дийским кала-азаром, эфиопским кожным лейшманиозом и некоторыми другими формами этой группы заболеваний.

Антигенная изменчивость в течение жизненного цикла, свойственная многим паразитическим простейшим, а также превалирование клеточных механизмов над гуморальными при формировании протективного иммунитета чрезвычайно осложняют задачу создания эффективных вакцин против протозойных инфекций.

Вопросы для самоконтроля

1. Каковы соотношения гуморальных и клеточных факторов специфического противоинфекционного иммунитета?
2. Каков удельный вес участия эффекторных молекул и клеток к антибактериальной и антитоксической защите?
3. Каковы особенности механизмов противовирусного иммунитета?
4. Какие защитные механизмы наиболее эффективны против грибковых инфекций?
5. Каковы особенности иммунитета при протозойных инфекциях?

ГЛАВА 18
ИММУНОПАТОЛОГИЯ

Иммунопатология — раздел иммунологии и патологии, изучающий патологические процессы и болезни, в возникновении которых играет роль иммунная система. Это: 1 — иммунодефицитные состояния, 2 — реакции гиперчувствительности или аллергии, 3 — аутоиммунные процессы.

Иммунодефицитные состояния — результат дефектов компонентов иммунной системы, при которых нарушено осуществление иммунологических функций организма. Реакции гиперчувствительности — результат избыточной или нецелесообразной с позиций поддержания гомеостаза активности иммунной системы или повышенной чувствительности организма к действию иммунологических факторов.

18.1. ИММУНОДЕФИЦИТНЫЕ СОСТОЯНИЯ

Иммунодефицитными состояниями называют нарушения в иммунной системе и в способности организма к нормальному иммунному ответу на антигены и к осуществлению других иммунологических функций.

В основу классификации иммунодефицитных состояний могут быть положены разные принципы (табл. 18.1). Прежде всего их подразделяют на врожденные и приобретенные. Первые часто связаны с генетическим блоком развития иммунной системы в онтогенезе, с предетерминированным нарушением процессов пролиферации и дифференциации иммунокомпетентных клеток.

Приобретенные иммунодефицитные состояния возникают вследствие нарушений иммунорегуляции, связанных с перенесенными инфекциями, травмами, лечебными воздействиями и другими причинами.

Другой принцип классификации иммунодефицитов связан с уровнем дефекта иммунной системы, ее дефектного звена. Наиболее тяжелыми являются комбинированные дефекты Т- и В-систем иммунитета. Чаще встречаются преимущественные дефекты либо

Таблица 18

Классификация имунодефицитных состояний

Наследуемость	Иммунодефицитные состояния	
	первичные	вторичные
Врожденные	Преимущественные дефекты В-звена — гипогаммаглобулинемия всех или отдельных классов Ig Преимущественные дефекты Т-звена — аплазия вилочковой железы	Врожденные метаболические дефекты: -дефицит аденозиндезаминазы -дефицит экто-5-нуклеотидазы -дефицит глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы
	Комбинированные дефекты Преимущественные дефекты фагоцитов Дефекты системы комплемента	Врожденные гормональные дисфункции Следствия внутриутробных инфекций (краснухи, цитомегаловирусной инфекции и др.)
	Приобретенаая агаммаглобулинемия (дефект синтеза Ig)	Дефекты В- и Т-звеньев как результат лимфопролиферативных заболеваний
Приобретенные	Лимфогранулематоз, саркоидоз Синдром приобретенного иммунодефицита — СПИД Приобретенные дефекты фагоцитов, вызванные внутриклеточными паразитами и другими причинами	Дефекты, связанные с инфекциями и интоксикациями Дефекты при метаболических нарушениях: диабете, ожирении, атеросклерозе, белковом голодании, истощении, уремии, ожогах Дефекты, вызванные лечебными воздействиями: облучением, иммуносупрессорами, хирургическими вмешательствами и др. Иммунодефицитные состояния при старении

Т-, либо В-системы. Примером врожденного дефекта Т-системы иммунитета является синдром аплазии тимуса.

Преимущественные дефекты В-системы иммунитета выявляются как синдромы гипогаммаглобулинемии или агаммаглобулинемии. Причем снижение уровня иммуноглобулинов в сыворотке крови может касаться либо всех классов Ig, либо избирательно — одного-двух классов. Чаще других наблюдается избирательная недостаточность

SIgA, с чем бывают связаны грубые нарушения местной защиты слизистых оболочек.

Для некоторых иммунодефицитных состояний характерна чрезвычайно высокая избирательность дефекта. Примером является СПИД, возбудитель которого — ВИЧ — избирательно поражает и выводит из строя лишь одну из субпопуляций Т-лимфоцитов — Т-хелперы. Однако даже такой избирательный дефект отражается как на клеточных, так и на гуморальных механизмах защиты организма, так как Т-хелперы являются одной из иммунорегуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов.

Следует учитывать, что один и тот же синдром, например гипогаммаглобулинемия, может быть следствием дефекта разных звеньев иммунной системы. В одном случае причиной может быть дефект В-лимфоцитов, в других — дефект антиген-представляющих клеток или дефект Т-хелперов.

Третий принцип классификации иммунодефицитных состояний основан на анализе конкретных причин их возникновения. Генетически детерминированные иммунодефицитные состояния выявляются в основном у детей первых месяцев жизни, которые редко доживают до года без проведения активного лечения с замещением выявленных дефектов.

Гораздо чаще встречаются у детей и взрослых приобретенные иммунодефицитные состояния инфекционной природы. Они возникают вследствие размножения возбудителей непосредственно в клетках иммунной системы. Персистирующие и размножающиеся в иммунокомпетентных клетках вирусы, риккетсии, грибы, простейшие, бактерии могут вызывать разрушение этих клеток или нарушение их функций. Например, ВИЧ репродуцируется в Т-хелперах, вирус инфекционного мононуклеоза Эпштайна–Барр избирательно поражает В-лимфоциты.

Инфицированные иммунокомпетентные клетки могут разрушаться под действием самого возбудителя, его компонентов или продуктов (токсинов, ферментов). Причиной гибели зараженных клеток может явиться также специфическая иммунная реакция организма, направленная против микробных антигенов, включенных в клеточную мембрану. Часто иммунокомпетентные клетки утрачивают определенные функции или приобретают новые в результате их инфицирования. Например, наблюдается поликлональная активация В-лимфоцитов после инфицирования клеток вирусом Эпштайна–Барр (EBV).

Еще более многочисленную группу составляют иммунодефицитные состояния, которые развиваются вследствие нарушения процессов иммунорегуляции в ходе перенесенной инфекции. Постинфекционная или поствакцинальная иммуносупрессия может носить как антигенспецифический, так и антигеннеспецифический характер, чем и определяется спектр ее иммунопатологических последствий.

Достаточно частой причиной развития вторичных нммунодефицитных состояний являются первичные (врожденные или приобретенные) метаболические или гормональные дефекты. Дефекты метаболизма встречаются при диабете, ожирении, атеросклерозе, уремии, истощении, на фоне которых развиваются вторичные дефекты иммунокомпетентных клеток.

Нередкой причиной формирования вторичных иммунодефицитных состояний являются иммунопролиферативные заболевания, а также применение иммуносупрессирующих воздействий и препаратов с целью лечения опухолевых или иммунопатологических процессов.

Чаще всего иммунодефицитные состояния приводят к возникновению оппортунистических инфекций, вызванных условно-патогенными микроорганизмами, представителями аутохтонной микрофлоры кожи, слизистых оболочек дыхательных путей или желудочно-кишечного тракта. На фоне преимущественных дефектов гуморального иммунитета (В-звена) преобладают бактериальные (стафилококковые, стрептококковые и др.) инфекции. На фоне преимущественных дефектов клеточного иммунитета (Т-звена макрофагов) проявляются в основном вирусные инфекции (герпес, цитомегаловирусная инфекция и др.), кандидозы, микобактериозы и др.

Иммунодефицитные состояния могут приводить к возникновению опухолей, о чем свидетельствует необычайно высокая частота развития саркомы Капоши у больных СПИДом. Это объясняется дефектом иммунологического противоопухолевого надзора. Иммунодефицитные состояния могут проявляться также в виде аллергических и аутоиммунных заболеваний.

Для лабораторной диагностики иммунодефицитных состояний проводится поэтапная оценка иммунного статуса организма с целью выявления уровня дефекта и уточнения дефектного звена.

18.2. РЕАКЦИИ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Реакции гиперчувствительности или аллергические реакции, как и другие иммунологические реакции, могут быть индуцированы чужеродными либо собственными антигенами и соответственно называются *гетероиммунными* и *аутоиммунными*. Антигены, вызывающие аллергические реакции, именуют *аллергенами*. Реакции гиперчувствительности служат причиной развития многих патологических процессов и болезней. Вместе с тем клеточные реакции гиперчувствительности являются компонентами защиты от вирусных инфекций — туберкулеза, сифилиса, кандидозов и др. Развитие гиперчувствительности организма человека к каким либо антигенам (аллергенам) называют *сенсибилизацией*.

Таблица 18.2

Типы аллергических рекций

Номер типа	Наименование типа	Основные механизмы иммунопатологических рекций	Примеры клинических проявлений
Тип I	Анафилактический	Выработка IgE цитотропных антител, их фиксация на тучных клетках и базофилах; реакция антиген – антитело с высвобождением медиаторов типа гистамина из этих клеток	Атопическая бронхиальная астма, ринит, анафилактический шок (медикаментозный и др.)
Тип II	Цитотоксический	Выработка IgG и IgM против антигенов, входящих в состав клеточных мембран, цитолиз вследствие реакции антиген — антитело через активацию комплемента	Лекарственная аллергия, гемолитическая анемия, тромбоцитопения, аутосенсибилизация к антигенам щитовидной железы, базальных мембран почек, кожи и др.
Тип III	Иммунокомплексный	Выработка преципитирующих антител, избыток антигена, патогенетические реакции, инициированные иммунными комплексами через активацию комплемента и лейкоцитов	Сывороточная болезнь, аутоиммунные заболевания (коллагенозы), осложнения инфекционных заболеваний и др.
Тип IV	Клеточный	Накопление сенсибилизированных Т-лимфоцитов, реакция между антигеном и сенсибилизированными Т-лимфоцитами с их активацией, выработкой лимфокинов и цитотоксические реакции при участии макрофагов	Аллергические явления при инфекционных заболеваниях и аутоиммунных заболеваниях, контактная аллергия (лекарственная и др.)

В зависимости от преимущественной роли тех или иных иммунопатологических механизмов в развитии реакций гиперчувствительности их делят на 4 основных типа (табл. 18.2). Однако у конкретных больных чаще всего встречаются комбинированные реакции.

Реакции гиперчувствительности I типа носят также название *анафилактические* (греч. *Ana* — обратный, *phylaxis* — защита). Это — немедленные общие или местные реакции, обусловленные действием

медиаторов, выделяемых тучными клетками, базофилами и некоторыми другими после контакта антигена с цитофильными антителами, фиксированными на этих клетках. Возникновение анафилактических реакций часто связано с наследственной предрасположенностью к формированию иммуноглобулинов IgE. Такие реакции называют *атопическими.* Факторами риска развития атопий могут быть атопические заболевания у родителей, обладание некоторыми антигенами системы MHC-A1, A2, B7, B8, B4. Аллергены, чаще всего вызывающие анафилактические реакции, — экзогенные вещества с низкой молекулярной массой, что способствует их проникновению через слизистые и стимуляции продукции IgE. Это могут быть вещества растительного, животного происхождения, в том числе и пища, лекарства, компоненты микроорганизмов. Часто аллергенами бывают пыльца цветущих растений, элементы домашней пыли.

Основой развития анафилактических реакций служат *гомоцитотропные* (тропные к клеткам собственного организма) иммуноглобулины класса Е. Продукция антител этого класса контролируется Т-хелперными лимфоцитами (Тх2), продуцирующими интерлейкины ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13, которые переключают синтез иммуноглобулинов на формирование IgE. ИЛ-4 также усиливает пролиферацию тучных клеток, что необходимо для развития следующих этапов реакции. Продукция IgE находится в обратной зависимости от продукции IgA. Дефицит IgA, встречающийся у 1–2 чел. из 1000, служит фактором риска развития аллергических состояний.

Образующиеся после воздействия аллергена гомоцитотропные антитела быстро фиксируются на базофильных лейкоцитах , их производных тучных клетках и некоторых других, обладающих рецепторами для IgE. К поверхности каждой клетки может присоединиться до 300 000 молекул глобулина. Повторно попадающий в сенсибилизированный организм аллерген сразу связывается с фиксированными на клетках молекулами антител, соединяя их между собой, и индуцирует цепь реакций, приводящих к выходу из гранул клеток биологически-активных медиаторов, получивших общее название *анафилотоксины.* Наиболее существенными из них считаются вазоактивные медиаторы — гистамин, медленно действующая субстанция анафилаксии (SRS-A) и др. В отдельную группу выделены гепарин, лизосомные ферменты, хематтрактанты. Все эти медиаторы вызывают развитие острой воспалительной реакции, спазм гладкой мускулатуры сосудов и бронхов. Гистамин увеличивает проницаемость сосудов, активирует миграцию эозинофилов и других лейкоцитов. Вслед за острой фазой, связанной с прямым действием медиаторов, наступает второй этап развития анафилактической реакции. Он заключается в клеточных процессах, осуществляемых эозинофилами, нейтрофилами, тромбоцитами, участвующими в возникновении инфильтра-

тов в коже, обструкции бронхов, ринитов. Аллергические реакции контролируются нервной системой и могут быть активированы или подавлены симпатическими и парасимпатическими медиаторами.

Развитие местных и общих анафилактических явлений происходит через несколько минут после попадания аллергена в сенсибилизированный организм, что их отличает от других реакций гиперчувствительности, реализуемых клетками или иммунными комплексами антиген — антитело. Крайний случай немедленных реакций — анафилактический шок — обусловлен резким расширением сосудов, падением кровяного давления, спазмом гладких мышц и бронхов. Лишь своевременное введение адреналина позволяет предотвратить смертельный исход.

Важным признаком анафилактической гиперсенсибилизации служит возможность десенсибилизации путем повторных введений минимальных доз аллергена. В результате подавляется или снижается способность к реакции организма на аллергены. Процессы десенсибилизации связаны с переключением синтеза IgE на IgA или IgG. Это обусловлено активацией лимфоцитов-хелперов Тх1, продукцией интерферона, интерлейкинов ИЛ-10, ИЛ-12. Аллергическими заболеваниями: атопический ринит, дерматит (экзема), бронхиальная астма и др. — страдает около 10% населения.

Для избежания острых аллергических реакций на введение в организм веществ, к которым организм может оказаться сенсибилизированным (антибиотики, белковые препараты), используется метод А. Безредка — первоначальное введение небольшой дозы препарата и при отсутствии реакции — введение полной дозы.

Реакции гиперчувствительности II типа

Эти реакции получили название *цитотоксические*. В их основе лежит выработка антител, направленных против антигенов — компонентов клеточных мембран. В качестве таких антигенов могут выступать аутоантигены клеток и тканей организма и антигены, вторично фиксированные на клеточных мембранах (лекарственные аллергены). Антитела IgG и IgM в комплексе с антигенами способны связывать и активировать систему комплемента по классическому пути. Основным механизмом повреждения и гибели клеток-«мишеней» является комплементзависимый цитолиз. Феномен цитотоксичности (иммунного гемолиза) наблюдается при некоторых формах лекарственной аллергии (к пенициллину — анемия, к сульфаниламидам — агранулоцитоз и др.), при переливании несовместимой крови, при аутоиммунных заболеваниях.

К группе реакций II типа могут быть отнесены результаты воздействия антител на клеточные рецепторы. Антитела к клеточным рецепторам редко повреждают клетки, к которым присоединяются. Однако они могут блокировать клетку и препятствовать рецепции

соответствующих веществ либо, наоборот, активировать клетку, имитируя их действие. Так, при миастении антитела блокируют рецепторы ацетилхолина, при сахарном диабете — рецепторы инсулина, препятствуя действию этих веществ на клетки. При болезни Гревса (гипертиреоидизме), наоборот, антитела присоединяясь к рецепторам тиреостимулирующего гормона (ТСГ) на клетках щитовидной железы имитируют действие ТСГ и стимулируют продукцию тиреоидных гормонов.

Реакции гиперчувствительности III типа — иммунокомплексные реакции

Иммунологические реакции III типа обусловлены патогенным действием комплексов антиген — антитело. Формирование иммунных комплексов антиген — антитело — центральный момент любой иммунологической реакции. Сформированные в организме антитела вступают во взаимодействие с находящимся в жидкостях или тканях организма антигеном, формируя качественно новую структуру комплекс антиген — антитело или иммунный комплекс (ИК). ИК, сформированный с антигеном, находящимся в циркуляции, получил название *циркулирующий иммунный комплекс*. Он представляет собой, как правило, макромолекулярную структуру, содержащую множество молекул антигена и антител. ИК имеет свойство присоединять и активировать комплемент и присоединяться к любым клеткам, преимущественно фагоцитам, обладающими рецепторами к Fc-фрагменту иммуноглобулиновой молекулы. ИК нейтрализует действие патогенных субстратов (например, токсинов или вирусов), способствует разрушению и фагоцитозу антигенных субстратов, вошедших в состав комплекса. Однако в определенных случаях иммунные комплексы способствуют повреждению клеток и тканей организма, вызывая болезненные состояния. Иммунокомплексные процессы возникают тогда, когда иммунные комплексы, вовремя не выведенные из циркуляции, фиксируются в тканях. Этому способствует длительное образование больших количеств комплексов, недостаточность системы их элиминации. Фиксация циркулирующих комплексов в тканях может быть обусловлена их механической задержкой в узких капиллярах почек, глаза, кожи, других органов. Клетки эндотелия сосудов и почечных клубочков обладают рецепторами, способствующими фиксации ИК. Рецепторы для ИК экспрессируются также на клетках в очагах воспаления. Фиксации ИК способствуют цитокиновые адгезины, экспрессируемые в местах присоединения комплексов.

В результате ИК, сформированные чаще всего внешними для организма антигенами, вызывают повреждение тканей. Механизмы повреждения включают активацию систем комплемента и свертывания крови, приток и активацию воспалительных клеток — макрофагов, эозинофилов, нейтрофилов. Агрегация тромбоцитов ведет к ос-

вобождению вазоактивных аминов, формированию микротромбов в капиллярах, а активация комплемента — к выработке анафилотоксинов и повреждению мембран клеток. Воспалительные клетки, выделяя лизосомные ферменты и активный кислород, вносят свой вклад в повреждение тканей. При этом могут возникать повреждения самой разной локализации: кожи, суставов, артерий, почек, мышц и др. Болезни иммунных комплексов, как правило, носят системный характер, например сывороточная болезнь, системная красная волчанка. Нередко болезни иммунных комплексов развиваются при участии аутоантигенов и аутоантител. Однако роль пускового фактора может сыграть любой антиген инфекционной природы.

Аллергические реакции IV клеточного типа — реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). В отличие от реакций первых трех типов, которые объединяются в группу реакций гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ), обусловленных антителами, они характеризуются не только более поздним проявлением после повторного контакта с антигеном, но и принципиально иными иммунопатогенетическими механизмами.

В основе формирования реакции ГЗТ лежит не гуморальный, а клеточный иммунный ответ организма на первый (сенсибилизирующий) контакт с определенным антигеном. В этом случае можно говорить о «клеточно-опосредованной сенсибилизации». На примере реакций ГЗТ отчетливо видно, как один и тот же механизм иммунного воспаления может играть защитную или патогенетическую роль.

Аллергия клеточного типа развивается при многих инфекциях: туберкулезе, бруцеллезе, микозах и др. Сенсибилизацию клеточного типа могут вызывать живые вакцины, например вакцина БЦЖ. Сенсибилизация при этом связана с преимущественной пролиферацией Т-лимфоцитов, несущих специфические для данного антигена (аллергена) распознающие рецепторы. После этого в организме надолго сохраняется размножившийся клон сенсибилизированных Т-лимфоцитов, который вступает в реакцию с причинным антигеном при повторном его попадании в организм. Основным следствием такого взаимодействия является активация Т-эффекторов реакций ГЗТ с усилением выработки и секреции клеточных медиаторов — лимфокинов. Различают лимфокины, активирующие другие лимфоциты или макрофаги. К последним относится ряд факторов хемотаксиса, угнетения миграции макрофагов, активации макрофагов, а также γ-интерферон, оказывающий активирующее действие на макрофаги. Кроме того, лимфоциты секретируют цитотоксины, повреждающие клетки-«мишени».

В реакциях типа ГЗТ участвуют: Т-эффекторы, продуцирующие лимфокины; мобилизованные ими макрофаги, продуци-

рующие и секретирующие медиаторы-монокины; Т-киллеры — цитотоксические клетки-эффекторы, способные убивать клетки-«мишени», несущие на мембране специфические антигенные эпитопы (*см. рис. 17.1*).

Примером аллергической реакции клеточного типа может служить кожная проба на внутрикожное введение аллергена (туберкулина) в специфически сенсибилизированный (инфицированный или вакцинированный) организм. На месте введения аллергена образуется мононуклеарный инфильтрат, величина которого зависит от степени сенсибилизации и достигает максимума через 24–48 ч. Иммунопатогенетическая роль клеточно-опосредованных аллергических реакций особенно велика при некоторых хронических инфекциях и аутоиммунных заболеваниях.

18.3. АУТОИММУННЫЕ ПРОЦЕССЫ

Аутоиммунными процессами называют события, при которых происходит выработка антител и сенсибилизированных клеток к антигенам собственных тканей организма. Аутоиммунные процессы могут способствовать удалению из организма поврежденных компонентов (например, при ожогах), но часто вызывают патологические явления. Развитию аутоиммунных процессов препятствует естественная иммунологическая толерантность, при которой все потенциально-аутореактивные клетки элиминированы или стойко инактивированы. Аутоиммунные процессы возникают в следующих случаях:

1) при поступлении во внутреннюю среду антигенов физиологически изолированных тканей, к которым нет иммунологической толерантности; аутоиммунные заболевания нервной системы, глаз, репродуктивных органов, связанные с иммунной реакцией на антигены этих органов, попавшие в циркуляцию вследствие травмы или болезни;

2) при попадании в организм перекрестно-реагирующих антигенов (*см. главу 14*), обладающих способностью нарушать состояние толерантности. Так, например, антигены стрептококков имеют сходство с антигенами сердца и почечных клубочков, вирус кори — с белком миелина нервной ткани, некоторые варианты кишечной палочки — с антигенами слизистой оболочки толстой кишки, что способствует развитию иммунопатологических процессов в этих органах;

3) при нарушении функций иммунной системы, обеспечивающих развитие и поддержание толерантности, например в случаях лимфо-

пролиферативных заболеваний, иммунодепрессий, возрастных и наследственных дефектов иммунной системы.

Аутоиммунные заболевания могут развиваться по механизмам гиперчувствительности II, III и IV типов. Реакции II типа лежат в основе аутоиммунных заболеваний крови, некоторых форм тиреоидитов. Иммунокомплексные поражения (III тип) играют ведущую роль в патогенезе ревматоидного артрита и системной красной волчанки. Наиболее часто иммунопатологические процессы связаны с клеточными аутоиммунными реакциями, относимыми к IV типу реакций гиперчувствительности.

Вопросы для самоконтроля

1. Какие принципы положены в основу классификации иммунодефицитных состояний и в чем состоят различия между приобретенными (первичными и вторичными) иммунодефицитными состояниями? В чем особенности инфекционных иммунодефицитных состояний, связанных с инфекциями?
2. Какова этапность (последовательность) исследований, проводимых для оценки иммунного статуса организма человека? Как определить уровень иммунологического дефекта и уточнить дефектное звено иммунной системы?
3. Какие принципы положены в основу деления реакций гиперчувствительности на четыре типа и каковы иммунопатогенетические механизмы каждого из них? Как уточнить тип аллергии и природу причинного аллергена в каждом отдельном случае?
4. Какими механизмами обеспечивается иммунологическая толерантность и каковы причины ее утраты (срыва) с последующим развитием аутоагрессии? Какую роль при этом играют перекрестно реагирующие антигены?
5. В чем отличия иммунопатологии, связанной с иммунодефицитными состояниями — с одной стороны, и аллергическими и аутоиммунными заболеваниями — с другой?
6. Какие типы гиперчувствительных реакций участвуют в иммунопатогенезе аутоиммунных заболеваний?
7. Какие принципы положены в основу классификации реакций гиперчувствительности и каковы особенности патогенеза четырех основных форм гиперчувствительности?
8. Что такое аллергия и атопия, какова роль в их развитии врожденных и приобретенных факторов?
9. Определите понятие «аутоиммунитет», его роль в патологии и пути диагностики.
10. Что такое «десенсибилизация» и на чем основано ее применение?

ГЛАВА 19
ПРИКЛАДНАЯ ИММУНОЛОГИЯ

Наряду с большим теоретическим вкладом, который внесла иммунология в развитие медицины и биологии, ее методы получили самое широкое применение в диагностике, профилактике и терапии инфекционных и неинфекционных заболеваний, а также решении проблем немедицинских специальностей.

Иммунологические методы применяются для решения многих задач:

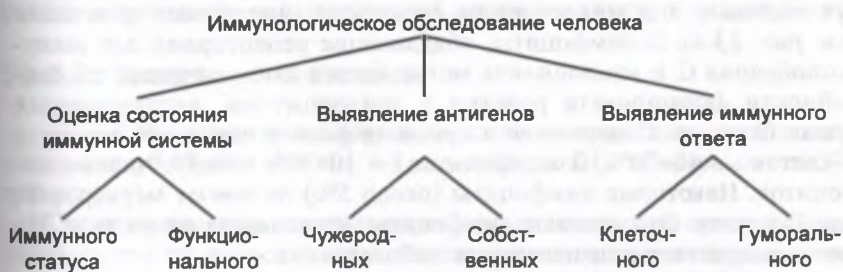
1. Оценка состояния иммунной системы человека (иммунного статуса) по определению количественных и функциональных характеристик клеток иммунной системы и их продуктов.
2. Определение состава и характеристик тканей человека: групп крови, резус-фактора, трансплантационных антигенов.
3. Диагностика инфекционных болезней и резистентности к ним по обнаружению и установлению титров антител (серодиагностика), выявлению антигенов возбудителей в организме, определению клеточных реакций на эти антигены.
4. Сероидентификация культур бактерий и вирусов, выделенных из организма человека и животных.
5. Выявление в организме человека и во внешней среде любых веществ, обладающих антигенными или гаптенными свойствами (гормоны, ферменты, яды, лекарства, наркотики и т.п.).
6. Выявление иммунопатологических состояний, аллергий, трансплантационных и противоопухолевых реакций.

Вместе с тем иммунологические методы лежат в основе создания вакцин, сывороточных препаратов для предупреждения и лечения инфекционных болезней, благодаря которым были спасены миллионы человеческих жизней. Современная иммунология обосновала создание новых видов лечебных препаратов — иммуноцитокинов, препаратов из тканей иммунной системы, средств направленной доставки лечебных препаратов на основе моноклональных антител, которые неоценимы в лечении многих заболеваний.

В следующих разделах будут рассмотрены методы оценки иммунного статуса человека, выявления и количественной оценки антигенов и антител, гиперчувствительности, получения моноклональных антител, а также основные сведения о вакцинах и сывороточных препаратах.

19.1. ИММУНОЛОГИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ ЧЕЛОВЕКА

Иммунологическое обследование человека сводится к оценке состояния иммунной системы (схема 19.1), выявлению чужеродных или собственных антигенов, обнаружению признаков клеточных и гуморальных специфических иммунных реакций.



С х е м а 19.1. Иммунологическое обследование человека

19.1.1. Оценка иммунного статуса

Оценка иммунного статуса организма начинается с ориентировочного клинического (первого) этапа, на котором врач собирает и оценивает иммунологический анамнез: частоту инфекционных заболеваний, характер их течения, выраженность температурной реакции, наличие очагов хронической инфекции, признаков аллергизации. Далее оцениваются результаты клинического анализа крови: содержание гранулоцитов, моноцитов, лимфоцитов. С помощью бактериологических, вирусологических и серологических исследований выявляется бактерио- или вирусоносительство.

На втором этапе в иммунологической лаборатории проводится исследование крови с использованием иммунологических тестов 1-го и 2-го уровней.

Тесты 1-го уровня позволяют выявить грубые нарушения со стороны иммунной ситемы путем определения в крови процентного содержания и абсолютного количества Т- и В-лимфоцитов, уровня

иммуноглобулинов крови, оценки показателей неспецифической защиты организма.

Для выявления и подсчета Т-и В-лимфоцитов наиболее точными являются методы, состоящие в выявлении поверхностных маркеров — антигенов системы CD, которые были рассмотрены в разделе 13.1.

К этим антигенам биопромышленность готовит стандартные моноклональные антитела и наборы реактивов, позволяющие в иммунолюминесцентных и цитотоксических тестах (см. *далее*) выявить Т- и В-лимфоциты, их субпопуляции, другие клетки иммунной системы. Так, маркером Т-лимфоцитов служит антиген CD3, В-лимфоцитов — CD22, хелперных Т-лимфоцитов — CD4, цитотоксических лимфоцитов — CD8, естественных киллеров — CD16, CD56.

Т- и В лимфоциты выявляют также по их способности фиксировать на своей поверхности эритроциты барана или мыши, образуя видимые под микроскопом структуры, именуемые розетками (*см. рис. 13.4*). В-лимфоциты, обладающие рецепторами для иммуноглобулина G и комплемента могут быть выявлены также по способности формировать розетки с эритроцитами, нагруженными этими белками. Содержание в крови здорового взрослого человека Т-клеток — 40–70%, В-лимфоцитов — 10–30% общего числа лимфоцитов. Некоторые лимфоциты (около 5%) не имеют маркеров Т- или В-клеток. Это нулевые лимфоциты, утратившие рецепторы. Их число возрастает при некоторых заболеваниях.

Кроме того, к тестам 1-го уровня относится определение концентрации сывороточных иммуноглобулинов IgM, IgG и IgA. Для этого используются антисыворотки к тяжелым цепям иммуноглобулинов разных классов, реакция преципитации (тест иммунодиффузии — *см. 19.2*) или нефелометрия и турбидометрия, выявляющие взаимодействие иммуноглобулина с антителами по светорассеянию или мутности. Уровень сывороточных иммуноглобулинов отражает функциональное состояние В-системы иммунитета.

Для оценки факторов неспецифической защиты организма определяют фагоцитарную активность лейкоцитов крови. О фагоцитарной активности судят по способности клеток к фагоцитозу нейтральных частиц латекса, эритроцитов или микробных клеток. При этом вычисляют процент фагоцитирующих клеток (фагоцитарное число) и среднее число частиц поглощенных одним фагоцитом (фагоцитарный индекс).

Тесты 2-го уровня позволяют провести более тщательный анализ для уточнения характера дефекта, выявленного на предыдущем этапе с помощью ориентировочных тестов. К ним относится определение субпопуляций Т-лимфоцитов ($CD4^+$ и $CD8^+$), их соотношений, оценка их функциональной активности, супрессорного потенциала, анализ цитокинов и их рецепторов. Функциональная активность лимфо-

цитов может быть оценена по количеству бластных форм, нарастающих после активации клеток.

Потенциальную способность лимфоцитов к активации оценивают после стимуляции митогенами, фитогемагглютином и др., культивируемых вне организма клеток. Количество бластных форм может быть определено при микроскопии. Более точен и чувствителен радиометрический метод, оценивающий интенсивность включения радиоактивных предшественников (тимидина) в ДНК культивируемых клеток. Для оценки иммунной защиты слизистых используется определение секреторных иммуноглобулинов IgA.

Уровень активности фагоцитов оценивают по их способности к ферментативной обработке поглощенных клеток. Наиболее распространен так называемый НСТ-тест, основанный на выявлении способности клеток восстанавливать бесцветный реактив нитросиний тетразоль в краситель, окрашивающий активную клетку в синий цвет.

19.1.2. Выявление антигенов

Современные иммунологические методы позволяют выявлять менее 0,05 нг антигена в 1 мл субстрата (1 нанограмм = 10^{-9} грамма).

Создание иммуногенных антигенов из относительно простых пептидов путем их конъюгации с высокомолекулярным носителем открыло широкие возможности получения к ним антител и приготовления готовых наборов реактивов для выявления в организме и вне организма большого числа веществ ранее недоступных иммунологическому исследованию.

Традиционными для инфекционной иммунологии являются методы обнаружения в крови обследуемых людей антигенов микроорганизмов. Обнаружение таких антигенов служит ранним и достоверным признаком наличия инфекции в организме. Длительное обнаружение микробных антигенов свидетельствует о персистенции возбудителя и недостаточности иммунной реакции для их элиминации.

В случаях развития в организме деструктивных процессов в крови могут появляться нормальные или измененные антигены поврежденных тканей. Так, при инфарктах миокарда в крови могут быть обнаружены антигены сердечной мышцы, при травмах головного мозга — антигены нервной ткани, при синдроме длительного сдавления — антигены поврежденных органов.

Широко используются методы выявления в крови, моче, других средах организма гормонов для диагностики беременности (хорионический гонадотропин), эндокринных расстройств. В онкологии существенное диагностическое значение имеет выявление опухолевых антигенов в крови обследуемых.

Определение антигенов крови и тканей лежит в основе гемотрансфузий и трансплантации органов и тканей. Эти же методы используются для идентификации личности, установления отцовства.

Иммунологические методы используются для определения в организме лекарственных веществ, наркотиков, анаболических и других средств, используемых для повышения физических возможностей спортсменов.

Антигенный анализ используется для идентификации микроорганизмов, выделенных от человека.

19.1.3. Специфические реакции организма на антиген

Одной из основных задач иммунологического обследования человека является выявление наличия и особенностей иммунного ответа организма на антигенное воздействие.

Обнаружение антител к предполагаемому возбудителю служит одним из основных диагностических признаков инфекционного заболевания. Обнаружение антител — поздний признак, так как антитела появляются в крови через 5–7 сут. после начала инфекционного процесса. Кроме того, антитела могут содержаться в крови ранее болевших или перенесших субклиническую форму инфекции, у ранее вакцинированных людей. Диагностическое значение имеют высокие уровни антител, их появление или нарастание при повторных исследованиях.

Выявление антител класса E к аллергенам служит надежным доказательством наличия аллергического заболевания и позволяет установить какой именно аллерген был его причиной.

В поисках причины иммунопатологического или аутоиммунного процесса нередко определяют антитела к антигенам органов и тканей. Трактовка результатов таких исследований может быть неоднозначной, так как далеко не во всех случаях аутоантитела способны вызвать иммунопатологическое повреждение (*см. главу 18*).

Более информативно обнаружение аутоантител на клетках в очагах повреждения.

Кожные пробы. Среди методов выявления иммунного ответа на антигены широко используются кожные пробы, состоящие в оценке местной воспалительной реакции на нанесение специально подобранной дозы антигена на кожу или введения его внутрикожно. Может также оцениваться реакция на нанесение антигена на участки слизистых поверхностей. Различают два вида реакций — антитоксические и аллергические. Антитоксические реакции (например, проба Шика с дифтерийным токсином) положительны в том случае, если в организме нет антител, способных нейтрализовать токсин. Следовательно, о защищенности организма от действия токсина свидетельствует

отсутствие реакции. Аллергические реакции положительны в тех случаях, когда организм обладает повышенной чувствительностью к введенному антигену. К таким реакциям относятся реакции на туберкулин при туберкулезной инфекции, реакции на аллергены при аллергических заболеваниях. По срокам появления и характеру кожной реакции можно определить обусловлена реакция антителами или сенсибилизированными клетками. Реакции, опосредованные антителами IgE, возникают через несколько минут после введения антигена (аллергена) и проявляются покраснением, возможным появлением волдыря. Это — *реакции гиперчувствительности немедленного типа.* Реакции, обусловленные антителами IgG, IgM, возникают через 3–6 ч в виде покраснения и инфильтрации кожи. Они формируются в ответ на образование комплекса введенного антигена с имеющимися в организме антителами и относятся к III группе реакций гиперчувствительности (*см. 18.2*).

Местные реакции реализуемые клетками возникают в виде покраснения и уплотнения через 24–48 ч после введения антигена. Это — *реакции замедленной гиперчувствительности,* характерные для туберкулеза, кандидозов, лепры, вирусных инфекций. Местное воспаление связано с действием сенсибилизированных Т-лимфоцитов и продуцируемых ими цитокинов.

Местные реакции немедленной гиперчувствительности могут быть воспроизведены в пассивном варианте: сыворотка, в которой предполагается присутствие IgE-антител, вводится внутрикожно другому лицу (например, матери ребенка) и в то же место вводится аллерген. В случае реакции между введенными антителами и аллергеном возникает местная воспалительная реакция. Такой вариант используется, если постановка прямой реакции может нанести ущерб здоровью обследуемого.

Лабораторные методы выявления гиперчувствительности. Клеточные реакции на антигены могут быть воспроизведены вне организма. Может быть определено воздействие антигена на клетки обследуемого в условиях их культивирования вне организма. Антиген активирует сенсибилизированные лимфоциты, которые вступают в реакцию бластрансформации, что может быть определено при микроскопии. Активация лимфоцитов может быть документирована также радиометрией по включению в ДНК культивируемых клеток радиоактивных предшественников.

Другие методы оценки клеточной реактивности основаны на выявлении активности цитокинов, продуцируемых сенсибилизированными лимфоцитами после дополнительной активации антигеном. К таким тестам относится тест подавления миграции лецкоцитов, выделенных из крови, после добавления к ним испытуемого антигена. При действии антигена на лимфоциты гиперчувствительного организ-

ма эти клетки продуцируют цитокины, в частности «фактор, подавляющий миграцию лейкоцитов». Тест сводится к учету снижения миграционной активности взвеси лейкоцитов, помещенных в агаровый гель или в стеклянный капилляр, в присутствии антигена.

19.2. СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ

Реакции между антигенами и антителами in vitro или серологические реакции широко используются в микробиологических и серологических (иммунологических) лабораториях с самыми разнообразными целями:

1) серодиагностики бактериальных, вирусных, реже других инфекционных заболеваний,

2) сероидентификации выделенных бактериальных, вирусных и других культур различных микроорганизмов

Серодиагностику проводят с помощью набора специфических антигенов, выпускаемых коммерческими фирмами. По результатам серодиагностических реакций судят о динамике накопления антител в процессе заболевания, о напряженности постинфекционного либо поствакцинального иммунитета.

Сероидентификацию микробных культур проводят для определения их вида, серовара с помощью наборов специфических антисывороток, также выпускаемых коммерческими фирмами.

Каждая серологическая реакция характеризуется специфичностью и чувствительностью. Под специфичностью понимают способность антигенов или антител реагировать только с гомологичными антителами, содержащимися в сыворотке крови, либо с гомологичными антигенами соответственно. Чем выше специфичность, тем меньше ложноположительных и ложноотрицательных результатов.

В серологических реакциях участвуют антитела, принадлежащие главным образом к иммуноглобулинам классов IgG и IgM.

Все серологические реакции можно разделить на несколько групп:

19.2.1. Реакции, протекающие с укрупнением частиц антигена в растворе электролита (хлорида натрия). К ним относятся реакции микробной агглютинации, пассивной агглютинации, реакция преципитации с ее многочисленными вариантами;

19.2.2. Реакции, протекающие с нейтрализацией антигена, — реакция нейтрализации токсина антитоксином (флоккуляция), реакция нейтрализации вирусов, реакция торможения гемагглютинации (РТГА);

19.2.3. Реакции, протекающие с участием комплемента. К ним относятся реакции связывания комплемента, гемолиза и их модификации;

19.2.4 Реакции, протекающие с участием фагоцитов, — опсоно-фагоцитарная реакция и др.

19.2.5 Реакции, протекающие с участием меченых антигенов или антител, — реакции иммунофлюоресценции, радиоиммунный и иммуноферментный анализы (РИА, ИФА).

19.2.1. Реакции, протекающие с укрупнением антигена

Реакция агглютинации и ее варианты. Реакция агглютинации (*agglutinacio* — склеивание) внешне проявляется в склеивании и выпадении в осадок корпускулярных антигенов: бактерий, эритроцитов, а также частиц с адсорбированными на них антигенами под влиянием антител в среде с электролитом. Реакция протекает в две фазы. В первой фазе происходит специфическая адсорбция антител на поверхности клетки или частицы, несущей соответствующие антигены, во второй — образование агрегата (агглютината) и выпадение его в осадок, причем этот процесс происходит только в присутствии электролита (раствор хлорида натрия). Механизм реакции агглютинации описывается теорией «решетки» (рис. 19.1), согласно которой агглютинат образуется при соединении одного активного центра двухвалентного антитела с детерминантной группой одного антигена, а второго активного центра — с детерминантной группой другого антигена. Избыток или недостаток антител препятствует проявлению агглютинации. Для постановки реакции агглютинации используют корпускулярные антигены (суспензии бактерий, эритроцитов). Характер и скорость реакции зависят от антигенного строения бактериальной клетки. Мелкозернистую О-агглютинацию дают бактерии, лишенные жгутиков. О-агглютинация протекает медленно. При наличии Н-антигена реакция проявляется в образовании крупно-хлопьевидного осадка и протекает значительно быстрее.

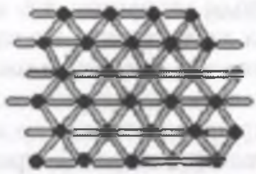


Рис. 19.1. Схема взаимодействия антигена с антителами

Реакция агглютинации недостаточно специфична и чувствительна. По данным признакам она уступает другим серологическим реакциям (преципитации, связывания комплемента и т.д.). Повысить специфичность и чувствительность реакции можно путем разведения исследуемой сыворотки до ее титра или половины титра. Титром сыворотки называется то ее максимальное разведение, в котором обнаруживается агглютинация антигена. Чем выше титр сыво-

ротки, тем достовернее результаты реакции. Чтобы дифференцировать причину положительной реакции (ранее перенесенная инфекция, вакцинация или текущее заболевание), оценивают динамику нарастания титра антител, которое наблюдается только при текущей инфекции.

При наличии у разных бактерий одинаковых или сходных групповых антигенов они могут агглютинироваться одной и той же антисывороткой, что затрудняет их идентификацию. В таких случаях применяют реакцию адсорбции антител по Кастеллани. Данная реакция основана на способности родственных групп бактерий адсорбировать из антисыворотки групповые антитела при сохранении в ней типоспецифических антител. Полученные сыворотки называются *монорецепторными*, так как содержат антитела только к одному определенному антигену. Они применяются для детального изучения антигенной структуры бактерий с целью определения их серовара.

Реакция непрямой, или пассивной, агглютинации (РПА). Под непрямой, или пассивной, агглютинацией понимают реакцию, в которой антитела взаимодействуют с антигенами, предварительно адсорбированными на клетках или частицах. В качестве сорбентов чаще всего применяют эритроциты различных животных, частицы целлюлозы, бентонита или латекса. В некоторых случаях пользуются обратным вариантом, т.е. адсорбируют на эритроцитах или иных частицах не антигены, а антитела.

Реакция преципитации и ее варианты. Сущность данной реакции состоит в осаждении (преципитации) антигена, находящегося в дисперсном коллоидном состоянии, воздействием специфических антител в растворе электролита. Механизмы реакций агглютинации и преципитации аналогичны и описываются теорией «решетки».

Реакция преципитации является высокочувствительным тестом, так как позволяет обнаружить малые количества антигена или гаптена. Высокая чувствительность реакции преципитации позволяет использовать ее для выявления антигенов с помощью известных антисывороток. В одном из вариантов последовательные разведения антигена наслаивают на стандартное разведение диагностической сыворотки в пробирках, при этом осадок образуется в виде кольца на границе двух сред (кольцепреципитация). Реакцию оценивают по максимальному разведению антигена, при котором наблюдается кольцо преципитации визуально. Кроме того, помутнение может быть зафиксировано инструментальными методами — нефелометрией и др.

Реакция преципитации применяется в лабораторной практике при диагностике инфекционных заболеваний, а также в судебной медицинской экспертизе для определения видовой принадлежности белков, в частности белков кровяных пятен, спермы и т.д. С помощью этой реакции в санитарной практике определяют фальсификацию рыбных и

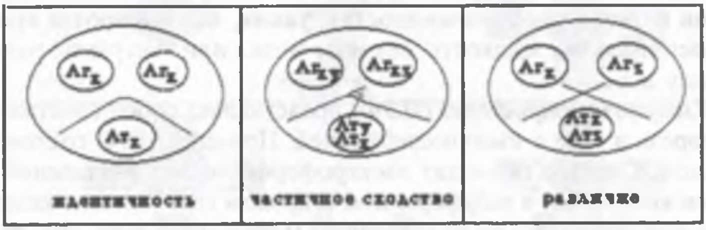


Рис. 19.2. Схема реакции преципитации в агаре

мясных изделий. В биологии реакция преципитации используется для установления степени филогенетического родства различных видов животных и растений.

Рис. 19.3. Реакция преципитации в агаре

Иммунодиффузия. Методы иммунодиффузии представляют собой вариант реакции преципитации, в которой взаимодействие антигена с антителами происходит не в жидкости, а в геле, что позволяет лучше выявлять и фиксировать результаты взаимодействия. В качестве геля чаще всего используется агаровый или полиакриламидный гель.

Существует несколько вариантов постановки реакций. Чаще всего используется метод двойной диффузии, при котором растворы, содержащие антигены и антитела, помещают в лунки, вырубленные в пластинке геля, находящегося на стекле. При экспозиции антигены и антитела диффундируют из лунок и на месте их встречи образуется полоса преципитации, хорошо видимая невооруженным глазом. Если в растворах содержалось несколько антигенных компонентов и соответствующие антитела, то они диффундируют в геле с разной скоростью и могут образовать несколько полос преципитации (ри. 19.3). Это позволяет выявить не только факт присутствия антигена, но и число составляющих компонентов. Взаимное расположение полос при помещении в соседние лунки сравниваемых антигенов дает возможность судить об идентичности составляющих их антигенов.

В другом варианте реакции раствор, содержащий антитела, смешивается с гелем до его застывания и помещения на стекло. Антиген помещается в лунку и при его диффузии в гель, содержащий антитела, образуется зона помутнения, диаметр которой пропоционален количеству антигена. Эта модификация метода, часто называемая по имени автора — метод Манчини, позволяет количественно определять антигены.

Обычно тесты иммунодиффузии используют для идентификации белков в биологических жидкостях, таких, как сыворотка крови, цереброспинальная жидкость, секреты желез или экстракты различных органов и т.д.

Иммуноэлектрофорез (ИЭФ) представляет собой сочетание электрофореза в геле с иммунодиффузией. Принцип ИЭФ состоит в следующем. Сначала проводят электрофоретическое разделение белков (смеси антигенов) в забуференном агаровом геле. Затем в канавку, которая идет параллельно направлению миграции белков, вносят преципитирующую иммунную сыворотку. Антигены и антитела диффундируют в геле навстречу друг другу, в месте их взаимодействия образуются дугообразные линии преципитации, количество, расположение и форма которых дают представление о составе исходной смеси антигенов. С помощью ИЭФ успешно анализируются белки сыворотки крови, спинномозговой жидкости, мочи, белки микробного происхождения. В клинической практике ИЭФ используют при диагностике иммунодефицитных состояний, проявляющихся дисгаммаглобулинемией.

В результате комбинации с другими методами анализа предложены диск-иммуноэлектрофорез, иммуноэлектрофокусирование, ракетный иммуноэлектрофорез, радиоиммуноэлектрофорез, иммуноблотинг.

Иммуноблотинг — один из современных высокоточных вариантов электрофореза с анализом разделенных белков иммунологическим методом. Тест осуществляется в три этапа: сначала проводится-электрофорез в полиакриламидном геле в присутствии ионного детергента додецилсульфата натрия. Разделенные антигены переносятся за счет капиллярных сил или дополнительного электрофореза на иммобилизующую нитроцеллюлозную мембрану. Находящиеся на мембране антигены анализируются с помощью меченых ферментной или радиоактивной меткой антител (иммуноферментным или радиоиммунным методом).

Реакция Кумбса (антиглобулиновый тест). Неполные антитела в отличие от нормальных моновалентны, поскольку они имеют один активный центр, способный взаимодействовать только с одним эпитопом: в то время как другие эпитопы остаются не связанными. В результате этого не происходит образования крупных комплексов, выпадающих в осадок в растворе электролита. Последние проявляются только в реакциях с бивалентными антителами. Для исправления этого положения вводится антиглобулиновая сыворотка (АГС), содержащая бивалентные антитела к глобулину, которая свяжет между собой моновалентные антитела, содержащиеся в исследуемом материале Таким образом произойдет визуально видимая реакция гемагглютинации или агглютинация, свидетельствующая о наличии в исследуемой сыворотке неполных (моновалентных) антител. Например, в случае беременности резус-отрицательной женщины резус-положитель-

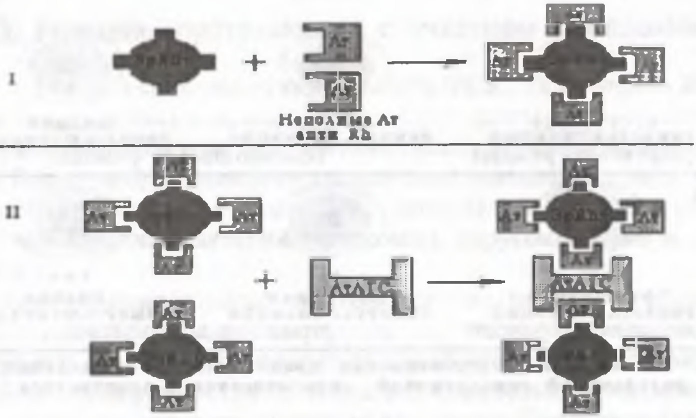


Рис. 19.4. Реакция Кумбса

ным плодом у нее в сыворотке крови появятся неполные антитела. Для их выявления в пробирку с исследуемой сывороткой крови вносят резус-положительные эритроциты, а затем АГС. Появление гемагглютинации свидетельствует о положительной реакции (рис. 19.4).

19.2.2. Реакции, протекающие с нейтрализацией антигена

Реакции нейтрализации основаны на способности антител нейтрализовать in vitro биологически-активные антигенсодержащие субстраты: токсины, вирусы, яды змей и т.п. Реакция состоит в смешивании биологически-активного вещества с сывороткой, содержащей антитела, и выявлении нейтрализации его активности в биологическом тесте на животном или в культуре ткани.

Реакция флоккуляции применяется для титрования антитоксических сывороток, токсинов и анатоксинов, а также для определения типа токсина. Реакция флоккуляции основана на способности токсина или анатоксина при смешивании в эквивалентных соотношениях с антитоксической сывороткой образовывать помутнение, а затем рыхлый осадок (флоккулят). Механизм реакции флоккуляции аналогичен таковому реакции преципитации.

Одним из вариантов реакции нейтрализации токсина антитоксином является реакция нейтрализации гемолитических свойств токсина специфической антисывороткой.

Реакция нейтрализации in vivo может быть поставлена для выявления антитоксина в организме исследуемого человека. С этой целью в область предплечья внутрикожно вводят незначительное количество токсина, измеряемое в кожных дозах. Отсутствие покрасне-

Рис. 19.5. Реакция гемагглютинации (РГА) и торможения гемагглютинации (РТГА)

ния и припухлости в месте введения токсина свидетельствует о его нейтрализации циркулирующим в крови антитоксином. Данная реакция была предложена Шиком для выявления иммунитета к дифтерии и получила название кожной пробы Шика. Она применяется для решения вопроса о целесообразности иммунизации детей дифтерийным анатоксином с целью профилактики дифтерии.

Реакция нейтрализации вирусов. При перенесении многих вирусных заболеваний или вакцинации в сыворотке крови людей обнаруживаются антитела, нейтрализующие инфекционные свойства соответствующих вирусов. Их обнаруживают при смешивании испытуемой сыворотки с вирусом с последующим заражением чувствительного животного либо клеточной культуры. Через несколько суток регистрируют результаты опытов по гибели подопытного животного или ЦПД в пробирке с клеточной культурой.

Реакция нейтрализации вирусов нашла широкое применение в вирусологической практике для определения вида (типа) исследуемого вируса и титра вируснейтрализующих антител. В этих случаях используют соответствующие диагностические антисыворотки.

Реакция торможения гемагглютинации (РТГА) является вариантом реакции нейтрализации вируса. Она основана на способности противовирусной антисыворотки подавлять вирусную гемагглютинацию эритроцитов определенных видов животных (кур, гусей и др.). Это объясняется способностью специфических антисывороток нейтрализовать вирусные гемагглютинины (рис. 19.5).

РТГА широко применяется для идентификации и типирования вирусов, а также для выявления антигемагглютининов в сыворотке крови исследуемых людей.

19.2.3. Реакции, протекающие с участием комплемента

Реакция связывания комплемента (РСК). Предложена Ж. Бордэ и О. Жангу в 1901 г. и, несмотря на столь длительное применение в лабораторной практике, не утратила своего значения по настоящее время. Более того, диапазон ее применения значительно расширился по мере открытия ранее неизвестных возбудителей новых инфекционных заболеваний: бактерий, микоплазм, вирусов, грибов и других патогенов.

Данная реакция используется для серодиагностики и обнаружения антигена в исследуемом материале, сероидентификации выделенных культур. Она характеризуется высокой чувствительностью и достаточной специфичностью, а также возможностью применения как корпускулярных, так и растворимых антигенов. Последнее связано с тем, что комплемент связывается с Fc-фрагментом антител независимо от их специфичности. Таким образом, способность комплемента связываться только с комплексом антиген — антитело за счет Fc-фрагментов последнего и не вызывать гемолиз сенсибилизированных эритроцитов (тест-система) послужила основой для широкого применения РСК в лабораторной практике в течение прошедшего столетия (рис. 19.6).

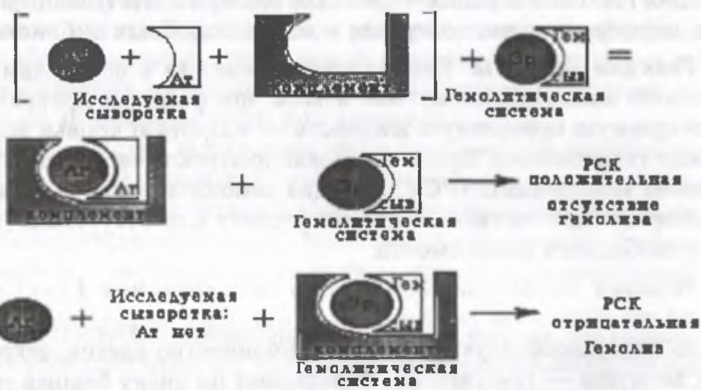


Рис. 19.6. Реакция связывания комплемента (РСК)

Для постановки РСК требуется предварительная подготовка ингредиентов реакции, особенно комплемента, в качестве которого используют сыворотку крови морской свинки с установкой рабочей дозы. Однако за последние десятилетия выпускается сухой оттитрованный комплемент, что значительно облегчило постановку реакции. Исследуемые сыворотки крови и антигены обязательно контролируются на антикомплементарность.

Постановку основного опыта производят в пробирках путем внесения в нее определенных объемов сыворотки крови, антигена и рабочей дозы комплемента. Смесь инкубируют в термостате при 37°С в течение часа. Регистрацию результатов реакции проводят по гемолизу сенсибилизированных эритроцитов барана. Их приготавливают при смешивании гемолитической сыворотки кролика с эритроцитами барана. При внесении комплемента в эту смесь происходит реакция гемолиза. Таким образом, в тех случаях, когда комплемент не связывается с исследуемой системой антиген — антитело, т.е. остается свободным, наблюдается полный гемолиз бараньих эритроцитов, который свидетельствует об отрицательной реакции. Отсутствие гемолиза указывает на связывание комплемента системой антиген — антитело, т.е. на положительную реакцию, которая обозначается крестами. Интенсивность задержки гемолиза оценивается по четырехкрестной системе, при этом полное отсутствие гемолиза обозначается ++++.

Реакция иммунного лизиса. В основе реакции лежит способность специфических антител образовывать иммунные комплексы с клетками, в том числе с эритроцитами, бактериями, что приводит к активации системы комплемента по классическому пути (*см. 11.6*) и лизису клеток. Из реакций иммунного лизиса чаще других применяется реакция гемолиза и редко — реакция бактериолиза (главным образом при дифференциации холерных и холероподобных вибрионов).

Реакция гемолиза. Под влиянием реакции с антителами в присутствии комплемента мутная взвесь эритроцитов превращается в ярко-красную прозрачную жидкость — «лаковую кровь» вследствие выхода гемоглобина. При постановке диагностической реакции связывания комплемента (РСК) реакция гемолиза используется как индикаторная: для тестирования присутствия или отсутствия (связывания) свободного комплемента.

Реакция локального гемолиза в геле (реакция Ерне) является одним из вариантов реакции гемолиза. Она позволяет определить число антителообразующих клеток. Количество клеток, секретирующих антитела — гемолизины, определяют по числу бляшек гемолиза, возникающих в агаровом геле, содержащем эритроциты, суспензию клеток исследуемой лимфоидной ткани и комплемент.

Реакция иммобилизации. Способность антисыворотки вызывать иммобилизацию подвижных микроорганизмов связана с реакцией между микробными антигенами и специфическими антителами в присутствии комплемента. Иммобилизующие антитела обнаружены при сифилисе, холере и некоторых других инфекционных заболеваниях. возбудители которых являются подвижными микроорганизмами.

19.2.4. Реакции, протекающие с участием фагоцитов

Опсонофагоцитарная реакция проводится для определения способности антител и комплемента усиливать фагоцитоз. Антитела, стимулирующие фагоцитоз, называют *опсонинами* (греч. *opsonion* — готовить пищу). Опсонизация определяется тем, что антитела, присоединившиеся к микроорганизму, обуславливают его быстрое поглощение фагоцитом благодаря тому, что фагоцит обладает рецепторами для Fc-фрагмента иммуноглобулина, присоединившегося к микробной клетке. Комплемент тоже обладает опсонизирующими свойствами, так как фагоцит содержит рецепторы и к компонентам комплемента. Для количественной оценки опсонического эффекта определяют опсонический индекс — отношение показателей фагоцитоза неопсонизированных микроорганизмов к показателям фагоцитоза (фагоцитарный индекс и фагоцитарное число) после обработки фагоцитоза антителами и/или комплементом.

19.2.5. Реакции, протекающие с участием меченых антигенов или антител

Тесты основаны на выявлении взаимодействия антигена с антителом с образованием иммунного комплекса антиген — антитело по метке одного из участников реакций, выявляемой либо визуально, либо с помощью специальных высокочувствительных приборов, позволяющих количественно выявить меченый субстрат и, следовательно, искомый антиген или антитело.

В качестве метки используют либо флюоресцирующий в ультрафиолетовом свете краситель (изоционат флюоресцеина), либо фермент (пероксидаза, щелочная фосфатаза), выявляемый по изменению окраски соответствующего субстрата (иммуноферментный анализ — ИФА), либо изотоп, выявляемый радиометрией (радиоиммунный анализ — РИА).

В отечественных лабораториях в течение многих лет используется иммунофлюоресцентный метод, разработанный Альбертом Кунсом и получивший его имя (рис. 19.7). Одна модификация метода, получившая название *прямого метода Кунса*, включает обработку материала на предметном стекле (мазок мокроты, срез ткани) меченой флюорохромом диагностической антисывороткой. Если на предметном стекле был искомый антиген, антитела фиксируются на антигене, и после отмывки стекла от несвязавшихся антител антиген выявляется в люминесцентном микроскопе по яркому свечению. Другая модификация — *непрямой метод Кунса* — основан на использовании меченой антиглобулиновой сыворотки. От прямого метода Кунса этот вариант отличается тем, что используется немеченая диагности-

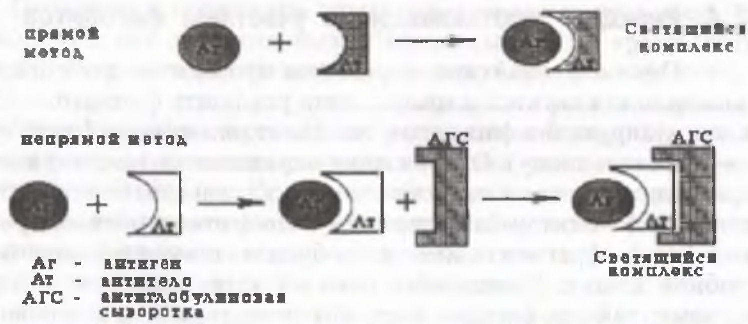


Рис. 19.7. Иммунофлюоресцентный метод Кунса

ческая сыворотка, а ее присоединение к антигену выявляется с помощью меченой антиглобулиновой сыворотки, выявляющей иммуноглобулин немеченой диагностической сыворотки, присоединившийся к искомому антигену.

Более современные методы выявления антигенов либо антител имеют множество вариантов. Большинство из них используют «твердофазную» технологию, основанную на том, что один из стандартизованных компонентов реакции (антиген или антитело) заранее в производственных фирменных лабораториях фиксируется в лунках специально приготовленных полистироловых или поливинилхлоридных панелей. Исследуемый материал помещается в эти лунки. Для выявления антигена могут быть использованы лунки, в которых фиксированы антитела. Если в материале содержался антиген, то он присоединяется к фиксированным антителам и сам оказывается фиксированным в лунке. Для выявления этого антигена используются меченые антитела, и после ряда отмывок для удаления несвязавшихся компонентов эти антитела выявляются в соответствии со своей меткой. Для выявления антител могут быть использованы лунки, в которых фиксирован антиген. Добавленные антитела фиксируются на антигене, остаются в лунке и могут быть выявлены с помощью меченых антиглобулиновых антител.

Мы привели примеры вариантов использования твердофазных методов и меченых компонентов реакций. Могут быть и другие варианты. Так, например, клетки крови или костного мозга могут быть обработаны флюоресцирующими антителами в жидкости. При этом клетки могут быть обработаны разными антителами, помеченными разными флюорохромами. Пропуская такие взвеси через специальный проточный флюориметр, можно одновременно выявить и подсчитать разные виды клеток. Присоединив к проточному флюориметру прибор, именуемый сортером, можно выделить или удалить из взвеси те клетки, которые необходимы исследователю или врачу.

Современные иммунофлюоресцентные, иммуноферментные и радиоиммунные методы отличаются высокой чувствительностью (выявление 0,0005–0,00005 мкг/мл белка), специфичностью, воспроизводимостью, возможностью выявления широкого круга биологических веществ. Современные производственные фирмы готовят все необходимые ингредиенты и оборудование для их использования.

Таким образом, развитие серологических методов диагностики происходит в настоящее время в следующем направлении:

1) использование меченых антигенов или антител с помощью флюорохрома, фермента либо радиоактивной метки;

2) постановка реакции на твердофазном носителе — полистероловом планшете с лунками с нанесенными в них антигенами или антителами.

Это позволяет повысить чувствительность метода, автоматизировать постановку реакции и использовать специальную аппаратуру для снятия результатов.

19.3. ВАКЦИНЫ. ИММУННЫЕ СЫВОРОТКИ. ИММУНОГЛОБУЛИНЫ

Одним из важнейших направлений прикладной микробиологии является создание эффективных препаратов для иммунопрофилактики и иммунотерапии инфекционных заболеваний. Среди таких препаратов различают:

1) вакцины и анатоксины— препараты для индукции в организме специфического иммунного ответа с формированием активного противоинфекционного иммунитета за счет мобилизации механизмов иммунологической памяти;

2) иммунные сыворотки и иммуноглобулины — препараты, содержащие готовые специфические антитела (иммуноглобулины), введение которых в организм приводит к немедленному приобретению пассивного гуморального иммунитета, способного защитить организм от интоксикации или инфекции.

19.3.1. Вакцины

Название «вакцины» было дано Л. Пастером всем прививочным препаратам, полученным из микроорганизмов и их продуктов. Э. Дженнером была получена первая живая вакцина, содержащая вирус коровьей оспы (*vaccinus* — коровий), идентичный по антигенным свойствам вирусу натуральной оспы человека, но маловирулентный для человека. Таким образом, первый вакцинный штамм был заим-

Таблица 19.1

Классификация вакцин

Группа вакцин по способам приготовления	Бактериальные вакцины	Вирусные вакцины
Живая (аттенуированная)	Туберкулезная — BCG Чумная Сибиреязвенная Туляремийная Бруцеллезная	Коревая Антирабическая Оспенная Паротитная Полиомиелитная I, II и III типов Против желтой лихорадки
Инактивированная	Лептоспирозная Коклюшная Гонококковая Бруцеллезная	Гриппозная Против клещевого энцефалита
Анатоксин	Стафилококковый Дифтерийный (АД) Столбнячный (АС) Секстаанатоксин Комбинированные препараты: - дифтерийно-столбнячный (АДС); - коклюшно-дефтерийно-столбнячный (АКДС)	—
Химическая (субъединичная)	Сыпно-тифозная Холерная (холероген + + О-антиген) Менингококковая Брюшнотифозная	Гриппозная и др.
Рекомбинантная		Гриппозная и др.
Генно-инженерная		Против гепатита В
Антиидиотипическая	В стадии разработки	
Липосомальная	В стадии разработки	

ствован из природы. Заслугой Л. Пастера была разработка принципов направленного получения вакцинных штаммов — селекция спонтанных мутантов с пониженной вирулентностью и сохранными иммуногенными свойствами путем культивирования их в определенных условиях или пассирования через организм устойчивых к данной инфекции животных. Исходя из этих принципов были получены

вакцины первого поколения: против бешенства, туберкулеза, чумы, туляремии, сибирской язвы, полиомиелита, кори, паротита и др. (табл. 19.1). Живые вакцины создают, как правило, напряженный иммунитет, сходный с постинфекционным. В большинстве случаев достаточно бывает однократной вакцинации живой вакциной, так как вакцинный штамм может размножаться и персистировать в организме. Применение живых вакцин опасно для людей (особенно детей) с врожденными или приобретенными иммунодефицитными состояниями, на фоне которых возбудители с пониженной вирулентностью могут вызвать тяжелые инфекционные осложнения.

Убитые вакцины готовят из микроорганизмов, обладающих максимально выраженной иммуногенностью, инактивированных прогреванием, УФ-лучами или химическими веществами (формалином, фенолом, спиртом и др.) в условиях, исключающих денатурацию антигенов. Примерами убитых вакцин могут служить вакцины против коклюша, лептоспироза, клещевого энцефалита (см. табл. 19.1). Следует учитывать, что аттенуированный, или убитый, возбудитель, с точки зрения современной иммунологии, — это множество различных антигенных детерминант, из которых «протективностью», т.е. способностью индуцировать защитный иммунитет, обладают очень немногие. В связи с этим целесообразно усовершенствование вакцин путем использования компонентов бактериальных клеток и вирионов, обладающих наиболее выраженным протективным действием, и очистки вакцинных препаратов от токсичных или аллергизирующих компонентов. Выделение из бактериальных клеток компонентов, соответствующих протективным антигенам, позволило получить вакцины второго поколения — химические. По сравнению с убитыми и живыми вакцинами химические вакцины менее реактогенны. Примером может служить холерная вакцина, которая состоит из двух компонентов: холерогена-анатоксина и ЛПС, извлеченного из холерных вибрионов. Аналогами бактериальных химических вакцин являются вирусные субъединичные (расщепленные) вакцины, содержащие лишь некоторые наиболее иммуногенные компоненты вирионов (см. табл. 19.1). Примером является противогриппозная вакцина, включающая гемагглютинин и нейраминидазу, т.е. именно те антигены, против которых вырабатываются вируснейтрализующие антитела. Субъединичные вакцины оказались наименее реактогенными, но и наименее иммуногенными.

Для повышения иммуногенности химических и субъединичных вакцин к ним добавляют разного рода адъюванты (*adjuvans* — помогающий, поддерживающий): гидрооксид алюминия, алюминиево-калиевые квасцы, фосфат алюминия и др. Те же адъюванты добавляют для повышения иммуногенности и к препаратам анатоксинов.

Анатоксины получают путем обработки токсинов формалином (0,3% раствор) при температуре 37°C в течение 30 дней. При этом токсин утрачивает ядовитость, но сохраняет способность индуцировать синтез антитоксических антител. Анатоксинами широко пользуются для выработки активного антитоксического иммунитета при специфической профилактике столбняка, дифтерии и других инфекций, возбудители которых продуцируют экзотоксины (см. табл. 19.1).

Достижения современной фундаментальной иммунологии и молекулярной биологии позволяют получить в чистом виде антигенные детерминанты (эпитопы). Правда, изолированная антигенная детерминанта иммуногенностью не обладает. Поэтому создание вакцин новых поколений требует конъюгации антигенных детерминант с молекулой-носителем. В качестве носителей можно использовать как природные белки, так и синтетические полиэлектролиты. Конструирование таких искусственных вакцин позволяет соединить несколько эпитопов разной специфичности с общим носителем, ввести в такой комплекс необходимую адъювантную группировку.

Другой принцип используется при создании вакцин следующего поколения — генноинженерных: на основе картирования геномов микроорганизмов гены, контролирующие нужные антигенные детерминанты, переносят в геном других микроорганизмов и клонируют в них, добиваясь экспрессии этих генов в новых условиях.

Сравнительно недавно была обоснована принципиальная возможность получения вакцин на основе антиидиотипических антител (*см. 15.5*). Это объясняется близким структурным сходством между эпитопом антигена и активным центром антиидиотипического антитела, распознающим идиотипический эпитоп антитела к данному антигену. Показано, например, что антитела против антитоксического иммуноглобулина (антиидиотипические) могут иммунизировать животное подобно анатоксину.

Вакцинация должна обеспечивать доставку антигенных эпитопов к иммунокомпетентным клеткам, при этом необходимо исключить возможность изменения их структуры под действием ферментов. Одно из перспективных решений этой проблемы связано с использованием липосом — микроскопических пузырьков, состоящих из двуслойных фосфолипидных мембран. Благодаря их сходству с клеточными мембранами липосомы не токсичны для организма, а заключенное в них вещество защищено от разбавления и деградации в крови. Липосомы способны адсорбироваться на клетках, причем их содержимое медленно поступает внутрь клетки. Фагоцитирующие клетки могут захватывать липосомы путем эндоцитоза с последующей деградацией их мембран. Антигены, включенные в состав поверхностной мембраны липосом, приобретают свойства адъюванта — способность вызывать сильный иммунный ответ. Другие антигены можно вводить в содер-

жимое липосом. В эксперименте такие «липосомные» вакцины вызывали тысячекратное усиление иммунного ответа.

Часть вакцин используется для обязательной плановой вакцинации детского населения: противотуберкулезная вакцина BCG, полиомиелитная вакцина, коревая, паротитная, АКДС (адсорбированная вакцина против коклюша, дифтерии и столбняка).

Другие вакцины обязательны для введения определенным контингентам в определенных районах (например, вакцина против клещевого энцефалита) или при опасности профессиональных контактов с возбудителем (например, вакцины против зооантропонозных инфекций). По эпидемиологическим показаниям начинают применять вакцины, предназначенные для предупреждения распространения эпидемий, например эпидемии гриппа.

При необходимости проведения массовой вакцинации населения по эпидемиологическим показаниям в настоящее время применяют безыгольный струйный инъектор. В основе безыгольного метода введения препарата лежит способность тонкой струи жидкости, выходящей под большим давлением, пробивать кожу и проникать на определенную глубину. Преимуществами такого метода являются: высокая производительность и экономичность, техническая простота соблюдения стерильности, исключение возможности передачи так называемых шприцевых инфекций (гепатит В, СПИД) и безболезненность. Общими требованиями к вакцинным препаратам являются: высокая иммуногенность (способность обеспечивать надежную противоинфекционную защиту), ареактогенность (отсутствие выраженных побочных реакций), безвредность и минимальное сенсибилизирующее действие.

До настоящего времени далеко не все вакцинные препараты отвечают этим требованиям. Применение многих вакцинных препаратов у определенной части вакцинированных людей сопровождается побочными реакциями и осложнениями. Частично осложнения являются следствием антигенной перегрузки, особенно у детей 1-го года жизни. В течение 1-го года жизни ребенок, как правило, получает 4–5 вакцинных препаратов. В течение первых 10 лет жизни «календарь прививок» создает высокую антигенную нагрузку на иммунную систему детского организма. Результатом может быть сенсибилизация, сопровождающаяся развитием гетероаллергии. Некоторые живые вакцины (против бешенства, против желтой лихорадки) у детей с иммунодефицитными состояниями оказываются энцефалитогенными. Осложнения при плановой вакцинации могут быть связаны с несоблюдением противопоказаний. К числу отдаленных осложнений вакцинации можно отнести развитие аутоиммунных заболеваний за счет действия перекрестно реагирующих антигенов в составе некоторых вакцин.

Значительно более ограничено применение вакцин с целью иммунотерапии, в основном при инфекциях с хроническим, затяжным те-

чением. С этой целью применяют, например, убитые вакцины: стафилококковую, гонококковую, бруцеллезную. В одних случаях курс вакцинотерапии может оказывать иммуностимулирующее, в других — десенсибилизирующее действие.

19.3.2. Иммунные сыворотки и иммуноглобулины

Иммунные сыворотки и получаемые из них иммуноглобулины — биологические препараты, содержащие антитела (схема 19.2). Они предназначены для создания пассивного антитоксического, антибактериального или антивирусного иммунитета у человека, нуждающегося в защите от инфекции или других потенциально-опасных веществ, обладающих антигенными свойствами.

Схема 19.2. Сывороточные препараты

Иммунные сыворотки и иммуноглобулины используются как средства серопрофилактики и серотерапии. В первом случае сывороточные препараты вводятся до возможного заражения или непосредственно после него, пока еще не появились признаки заболевания, а пациент не обладает собственными антителами, способными защитить его от заражения. Во втором случае препараты вводятся для лечения — нейтрализации токсинов или вирусов, усиления антимикробной защиты. Лечебные препараты используются в тех случаях, когда имеются основания считать, что организм не способен обеспечить собственную защиту.

Действие препаратов, создающих пассивный иммунитет, начинается быстро — сразу после введения, однако срок действия ограничен периодом их сохранения в организме. Кроме того, введенные антитела препятствуют развитию активного иммунитета против возбудителя.

Все сывороточные препараты делятся на две группы: гетерологичные, полученные из крови животных, и гомологичные, получен-

ные из крови человека (схема 19.2). Эти различия имеют принципиальное значение, так как гетерологичные препараты являются для организма человека чужеродными антигенами, их применение сопровождается развитием антител, которые могут не только нейтрализовать действие препарата, но вызвать в организме тяжелые аллергические и иммунокомлексные реакции.

Гетерологичные иммунные сыворотки получают из крови животных (чаще лошадей), подвергнутых интенсивной иммунизации анатоксином или другим антигеном (гипериммунизации). В настоящее время неочищенные сыворотки практически не применяют: их подвергают очистке от балластных веществ обработкой ферментами, диализом («Диаферм»), либо другими методами. Предпочтительнее использование глобулиновых фракций, которые содержат не более 20% всех белков, содержавшихся в сыворотке. Однако гетерологичные глобулины иммуногенны для человека, как и цельные сыворотки.

Преимущество гетерологичных препаратов в том, что интенсивная иммунизация животных позволяет достичь высокой концентрации антител, кроме того, нет ограничений в подборе продуцентов, тогда как иммунизация доноров связана с большими трудностями.

Высокая иммуногенность препаратов, полученных из крови животных, ограничивает их применение и требует особого внимания при использовании. Перед их применением следует осведомиться, вводили ли подобные вещества пациенту ранее, нет ли у него повышенной чувствительности к другим антигенам. При этом необходимо иметь в виду, что повышенная чувствительность может возникнуть и без введения препаратов за счет действия других антигенов, имеющих сходство с его белком. Во всех случаях необходим предварительный контроль чувствительности к данному препарату. За полчаса до внутримышечного или подкожного введения необходимой дозы пациенту делают внутрикожную пробу путем введения 0,1 мл разведенного 1:100 препарата и только при полном отсутствии местной или общей реакции вводят полную дозу препарата. К сывороткам и иммуноглобулинам, предназначенным для введения человеку, прилагается ампула разведенного препарата, предназначенная для предварительного контроля чувствительности к нему. В случае выявления чувствительности вместо гетерологичных препаратов могут быть использованы иммуноглобулины человека.

Препараты иммуноглобулинов, полученные из человеческой крови, для человека не иммуногенны, и в этом их преимущество перед гетерологичными сыворотками и глобулинами.

Иммуноглобулины человека готовят из донорской или плацентарной крови, предварительно смешивают сыворотки, полученные из крови разных лиц, и поэтому концентрация в них антител невелика. Кроме антител, ради которых готовят препараты иммуноглобулинов,

они содержат другие антитела, находящиеся в крови человека. Поэтому противокоревой иммуноглобулин используют и для профилактики гепатита, коклюша, менингита и других инфекционных заболеваний. Для получения препаратов иммуноглобулинов с повышенным содержанием антител производят предварительный отбор сырья — сывороток крови содержащих соответствующие антитела, а также используют сыворотки реконвалесцентов или доноров, подвергнутых иммунизации. Такие препараты маркируются отдельно и используются для групп особого риска: новорожденных, тяжелобольных и других.

Существующие методы приготовления глобулинов полностью исключают возможность присутствия в них вирусов, в том числе и ВИЧ (вируса иммунодефицита человека), но они могут содержать агрегированные в процессе приготовления реактогенные белки. Поэтому препараты иммуноглобулинов вводят только в мышцу, подкожно или наносят на слизистые. Иммуноглобулины, предназначенные для внутривенного введения, подвергают дополнительной обработке с целью удаления агрегатов и снижения реактогенности.

В качестве профилактических и лечебных препаратов могут использоваться «чистые антитела» — иммуноглобулины, полученные сорбцией антител на антигенных сорбентах. Однако такие антитела не получили широкого использования из-за сложности технологии приготовления и относительной нестабильности препаратов.

Среди перспективных препаратов на будущее необходимо назвать моноклональные антитела, обладающие высокой специфичностью действия. Получаемые в настоящее время моноклональные антитела — гетерологичные (чаще всего мышиные) иммуноглобулины, и к ним приложимо то, что было сказано выше относительно чужеродных препаратов. Однако моноклональные антитела — препараты, почти на 100% состоящие из специфических антител, что позволяет их вводить в малых и, следовательно, в низкоиммуногенных дозах. В настоящее время разработана технология создания гибридных молекул антител, состоящих из вариабильного (антигенсвязывающего) домена мышиного иммуноглобулина и остальной части молекулы от человеческого иммуноглобулина. Такие препараты для человека практически не иммуногенны.

Моноклональные антитела могут использоваться не только как биологически-активные вещества, воздействующие прямо на клетки и молекулы, обладающие соответствующими антигенами. Они могут использоваться как средство доставки других активных субстратов. Так, моноклональные антитела к антигенам опухоли могут быть конъюгированы с цитотоксическими лекарственными препаратами и использоваться в качестве «почтальонов», доставляющих лекарство непосредственно к опухоли.

19.3.3. Получение моноклональных антител (гибридомная технология)

Для использования большинства иммунологических и серологических методов исследования необходимо иметь стандартные препараты антител. Основные требования к этим препаратам — специфичность, стабильность, достаточное содержание антител. Сложность получения таких препаратов путем иммунизации животных связана с гетерогенностью получаемых при этом антител. Каждый природный антиген многокомпонентен, и к каждому его эпитопу формируются отдельные клоны антителообразующих клеток, что обуславливает большое разнообразие продуцируемых антител. Более того, к одной антигенной детерминанте может образоваться множество вариантов молекул антител. Таким образом, антитела, получаемые от разных особей одного вида, иммунизированных одним антигенным препаратом, не полностью идентичны. Получить абсолютно однородные антитела можно, только используя клетки — антителопродуценты одного клона — потомков одной специализированной клетки. Решить задачу, используя специально отобранные лимфоциты иммунного человека или животного, невозможно, поскольку срок жизни каждого клона клеток ограничен и количество продуцируемых антител очень невелико.

Положение коренным образом изменилось после того, как Г. Кёлер и Ц. Милштейн осуществили гибридизацию антителообразующих клеток, полученных от животного, с культивируемыми в пробирке клетками злокачественной опухоли — В-клеточной плазмацитомы. Полученные при этом гибридные клетки обладали свойствами обеих родительских клеток: способностью продуцировать антитела и способностью к неограниченному размножению вне организма.

Таким образом, были получены теоретически «бессмертные» клоны гибридных клеток (*гибридомы)*, способные к образованию неограниченного количества однородных продуктов одного клона клеток — моноклональных антител.

Процедура получения гибридомных клеток и моноклональных антител сводится к следующему (рис. 19.8). Животное (чаще мышь) иммунизируют нужным антигенным материалом. После того как началась продукция антител, удаляют селезенку, и из нее извлекают клетки, среди которых имеются антителообразующие В-лимфоциты. Все клетки смешивают со специально отобранными клетками культуры В-миеломы, дефектными по ферменту метаболизирующему гипоксантин. К смеси клеток добавляют вещество, повреждающее оболочки клеток и способствующее их слиянию между собой (полиэтиленгликоль, лизолецитин или вирус Сендай). В результате образуются разнообразные гибридные клетки, а часть клеток остается негибри-

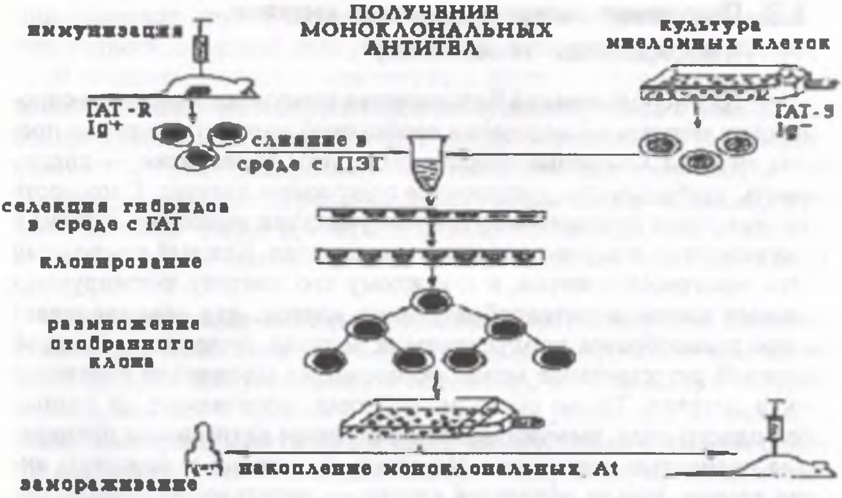


Рис. 19.8. Получение моноклональных антител

дизированной. Для того чтобы выделить только гибридные клетки, полученную смесь культивируют на специальной среде ГАТ (содержащей гипоксантин, аминоптерин и тимидин), в которой не могут жить родительские клетки. В среде остаются живыми только гибридные клетки, но с разными свойствами, так как в селезенке иммунизированного животного наряду с антителообразующими клетками, которые было необходимо получить, содержится много других лимфоцитов. Поэтому следующим этапом является отбор гибридных клеток, способных продуцировать необходимые антитела. Для этого взвесь полученных клеток разбавляют питательной средой и помещают в лунки специальных панелей так, чтобы в каждую лунку попало по одной клетке. Через определенное время определяют антитела, образовавшиеся в каждой лунке, и находят те клетки, которые можно использовать как родоначальников клона гибридомных клеток. Отобранные гибридомные клетки можно культивировать in vitro или in vivo, получая необходимые количества клеток и моноклональных антител. Гибридомные клетки могут храниться в замороженном состоянии, пересылаться из лаборатории в лабораторию. В ходе приготовления гибридомных клеток может быть выделено несколько клонов клеток, продуцирующих антитела к разным эпитопам антигена, что позволяет провести его разносторонний анализ.

Моноклональные антитела могут использоваться для разных практических целей:

1) для идентификации клеток — выявления Т- и В-лимфоцитов и других клеток, определения их свойств;

2) для осуществления современных радиоиммунных, иммунoферментных и иммунолюминесцентных методов выявления антигенов и антител;

3) для определения локализации антигенов в организме и доставки к ним (например, в опухоль) лекарственных веществ, присоединенных к антителам;

4) для приготовления иммуносорбентов, позволяющих выделить или удалить из организма антигены или клетки данной специфичности.

Вопросы для самоконтроля

1. Какие из серологических реакций отличаются: а) наиболее высокой чувствительностью; б) простотой и доступностью; в) универсальностью; г) возможностью быстрого получения результатов (экспресс-диагностики)?

2. В каких двух направлениях могут применяться серологические реакции с диагностической целью?

3. Каков смысл контрольных исследований и чем определяется их необходимость при постановке серологических реакций?

4. Какие из серологических реакций применяются для: а) выявления и идентификации антигена; б) определения и титрования антител; в) оценки напряженности антибактериального и антитоксического иммунитета; г) выявления неполных антител?

5. В каких реакциях применяются меченые антигены и антитела? В чем состоят преимущества этих методов?

6. Что такое моноклональные антитела и для каких целей они применяются?

7. Какие препараты используются для создания искусственного активного антимикробного и антитоксического иммунитета?

8. Каковы принципы классификации вакцин? Какие способы приготовления вакцин расцениваются как наиболее перспективные?

9. Какие препараты используются для создания искусственного пассивного антимикробного и антитоксического иммунитета?

10. С какими препаратами можно ввести в организм готовые антитела? Какую опасность представляют некоторые из них и как предупредить возможные осложнения?

11. Дайте определения серологическим и клеточным диагностическим реакциям.

12. Проведите сопоставления разных серологических реакций в плане их чувствительности, возможностей использования для выявления антигенов и антител, быстроты получения результатов, возможностей стандартизации и автоматизации.

13. Для чего и в каких реакциях используются меченые антигены и антитела? Назовите три основных вида метки.

14. Что собой представляют антиглобулиновые тесты и для чего они используются?

15. В чем преимущества недостатки и опасности кожных тестов, проводимых непосредственно на испытуемых людях?

16. В чем преимущества и недостатки пассивной иммунизации и какие виды препаратов для этого используются?

17. Какие опасности для человека представляет применение сывороточных и вакцинных препаратов и как их можно избежать?

18. Каковы основные виды вакцинных препаратов? Какие способы приготовления вакцин считаются наиболее перспективными?

19. Какие способы используются для обеспечения безвредности вакцинных и сывороточных препаратов?

20. С какими целями используют моноклональные антитела?

Часть четвертая

ЧАСТНАЯ МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Предметом изучения частной медицинской микробиологии являются патогенные микроорганизмы или патогены, вызывающие инфекционные заболевания человека. При этом речь идет не только о так называемых карантинных инфекциях (острые кишечные инфекции, скарлатина, дифтерия и многие другие), при которых больные, как правило, госпитализируются в клиниках инфекционных болезней, но и о микробных заболеваниях, встречающихся в клиниках хирургического и терапевтического профиля. Наряду с патогенами особую роль в инфекционной патологии играют условно-патогенные микроорганизмы, главным образом бактерии и дрожжеподобные грибы. Они, как правило, принадлежат к нормальной микрофлоре организма человека, заселяющей определенные биотопы, и в норме не проявляют патогенных свойств, однако при иммунодефицитах ведут себя как настоящие патогены, вызывая инфекции, которые называют *оппортунистическими*. Последние являются предметом изучения клинической микробиологии. В соответствии с природой возбудителей и их современной систематикой медицинскую микробиологию подразделяют на медицинскую бактериологию, медицинскую вирусологию, медицинскую микологию, медицинскую протозоологию.

ГЛАВА 20
МЕДИЦИНСКАЯ БАКТЕРИОЛОГИЯ

Предметом изучения медицинской бактериологии являются патогенные бактерии, принадлежащие к надцарству прокариотов, царству истинных бактерий. В силу чрезвычайного разнообразия данных возбудителей их систематическое положение может быть использовано для классификации вызываемых ими инфекционных болезней, например энтеробактерии, относящиеся к семейству Enterobacteriaceae, выделены в группу возбудителей кишечных инфекций, хотя многие из них могут вызывать другие инфекционные болезни: клебсиеллы — пневмонию, протей — гнойные инфекции и т.д. Поэтому данная классификация несовершенна. Более целесообразно использовать название бактерий для наименования соответствующих заболеваний. Например, заболевания, вызванные сальмонеллами, называть сальмонеллезами, шигеллами — шигеллезами, иерсиниями — иерсиниозами, кампилобактериями — кампилобактериозами и т.д. По патогенетическим особенностям инфекционные заболевания делят на респираторные, кишечные, урологические и др. Эпидемиологические критерии также используют для классификации инфекционных болезней, которые подразделяют на воздушно-капельные с аэрозольной передачей; контактные, передающиеся при прямом контакте; венерические — при половом контакте; зоонозные — через животных и др.

20.1. КОККИ

20.1.1. Грамположительные кокки

Грамположительные кокки широко распространены в природе. Большинство из них ведет сапрофитический образ жизни. Патогенные представители составляют ничтожное меньшинство. Они относятся только к двум родам Staphylococcus и Streptococcus, насчитывающих большое количество видов, и только несколько из них

вызывают заболевания у людей. В подавляющем большинстве случаев речь идет о гнойно-воспалительных процессах различной локализации. Поэтому их часто называют *гноеродными*, или *пиогенными*, кокками.

20.1.1.1. Стафилококки

Открыты Л. Пастером в 1880 г. Род Staphylococcus включает 19 видов, из них только 3 вида экологически связаны с организмом человека: S. aureus — стафилококк золотистый, S. epidermidis — стафилококк эпидермальный и S. saprophyticus — стафилококк сапрофитный. Заболевания, отличающиеся разнообразием клинических проявлений, вызывают золотистые, реже — эпидермальные и еще реже — сапрофитные стафилококки.

Морфология и физиология. Отдельные клетки стафилококков, имеющие форму правильного шара, при размножении образуют скопления в виде гроздьев винограда (*staphyle* — виноградная гроздь) (*рис. 20.1 на цв. вкладке*). В препаратах из патологического материала, в частности из гноя стафилококки располагаются парами или небольшими скоплениями. Золотистые стафилококки образуют микрокапсулу. Стафилококки являются хемоорганотрофами с окислительным и бродильным типами метаболизма. Они расщепляют многие углеводы в аэробных и анаэробных условиях. Диагностическое значение имеет способность сбраживать глюкозу и маннит в анаэробных условиях. Стафилококки — факультативные анаэробы, но лучше развиваются в аэробных условиях. На поверхности плотных питательных сред образуют круглые, выпуклые, пигментированные (золотистые, палевые, лимонно-желтые, белые) колонии с ровными краями; в жидких средах дают равномерное помутнение. В лабораториях используют способность стафилококков размножаться в средах с большим количеством (6–10%) хлорида натрия. Такую концентрацию соли другие бактерии не переносят, вследствие чего солевые среды являются элективными для стафилококков. Штаммы золотистых стафилококков, продуцирующие гемолизины дают на кровяном агаре колонии, окруженные зоной гемолиза (*рис. 20.2 на цв. вкладку*). Стафилококки образуют ферменты, сбраживающие многие углеводы. Дифференциально-диагностические значение имеет тест на сбраживание глюкозы в анаэробных условиях.

Антигены. Стафилококки обладают разнообразными антигенами, локализованными в основном в клеточной стенке, S. aureus имеет также капсульный антиген. Из компонентов клеточной стенки антигенами являются пептидогликан, белок А, расположенный снаружи пептидогликана. Наличие белка А характерно для S. aureus. Этот белок способен к неспецифическому соединению с Fc-фрагментами IgG, в связи с чем стафилококки, обладающие белком А, способны агглю-

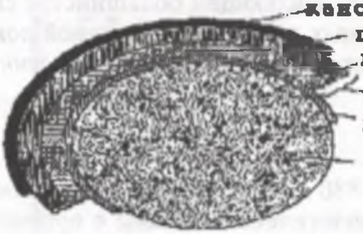


Рис. 20.3. Антигенная структура стафилококка

тинироваться нормальной человеческой сывороткой и давать неспецифическое свечение при обработке гетерологичными флюоресцирующими сыворотками. Капсульный антиген S. aureus имеет сложное химическое строение. Он состоит из уроновых кислот, моносахаридов и аминокислот. У стафилококков описаны и типоспецифические антигены (рис. 20.3).

Патогеность. Факторы вирулентности стафилококков, особенно S. aureus, связаны с их адгезией на рецепторах чувствительных клеток, колонизацией и агрессивными свойствами, проявляющимися в подавлении фагоцитоза. Адгезивная способность стафилококков выражена в отношении клеток и межклеточных веществ разных тканей (эпителий, фибронектин, коллаген, фибриноген и др.). При этом адгезия стафилококков на разных клетках и субстратах происходит за счет определенных адгезинов. Так, тейхоевые кислоты ответственны за адгезию на эпителиальных клетках. Стафилококки не прилипают к тромбам, если последние покрыты гноем, вследствие блокирования фибронектиновых рецепторов. Капсульные полисахариды также способствуют адгезии, в частности к эндопротезам. Важнейшим их свойством является индукция большого количества иммуноцитокинов, что приводит к возникновению очагов воспаления и образованию абсцессов. Капсульные полисахариды подавляют активность фагоцитирующих клеток. Белок А, содержащийся в клеточной стенке Staphylococcus aureus, обладает антифагоцитарными свойствами. Он связывается с фибронектином — адгезивным гликопротеином, покрывающим поверхность клеток и находящимся в базальных мембранах, основном веществе соединительной ткани, а также циркулирующим в крови. Выраженным токсическим действием не обладает. Таким образом, белок А участвует в адгезии и обладает агрессивным действием.

Из экзоферментов, продуцируемых главным образом S. aureus, существенную роль в патогенезе заболеваний играют плазмокоагулаза, гиалуронидаза, лецитиназа, фибринолизин, ДНК-аза.

Плазмокоагулаза вызывает свертывание плазмы крови. Стафилококки, продуцирующие этот фермент, покрываются фибриновым чехлом, защищающим их от фагоцитоза. Большие концентрации коагулазы, циркулирующие в организме больного, приводят к понижению свертываемости крови, нарушению гемодинамики, прогрессирующему кислородному голоданию тканей.

Гиалуронидаза, субстратом действия которой является гиалуроновая кислота, способствует распространению стафилококков в тканях вследствие нарушения их проницаемости.

Лецитиназа разрушает лецитин в составе клеточных мембран лейкоцитов и других клеток, что способствует лейкопении.

Фибринолизин растворяет фибрин, ограничивающий местный воспалительный очаг, чем приводит к генерализации инфекции. Патогенетические свойства других ферментов стафилококков (нуклеазы, липазы, протеиназы, фосфатазы), часто сопровождающих коагулазную активность, четко не определены. Из ферментов, участвующих в патогенезе стафилококковых инфекций, только коагулаза и частично ДНК-аза характерны для S. aureus. Другие ферменты непостоянны.

Токсины. Стафилококки секретируют ряд токсинов, отличающихся друг от друга по механизму действия. К ним относятся мембраноповреждающие токсины или мембранотоксины. Они образуют каналы в цитоплазматической мембране эритроцитов, лейкоцитов и других клеток, что приводит к нарушению осмотического давления и лизису соответствующих клеток. Ранее их называли *гемолизинами*, полагая, что они лизируют только эритроциты. Мембранотоксины отличаются друг от друга по антигенным свойствам, «мишени» и другим признакам. α-токсин обладает еще дермонекротическим и кардиотоксическим действием. Он представляет собой белок с выраженными иммуногенными свойствами. Из него получен анатоксин, использующийся для лечения и профилактики стафилококковых заболеваний. β-токсин наряду с мембраноповреждающим действием на эритроциты и соединительнотканные клетки, угнетает хемотаксис полиморфно-ядерных лейкоцитов. χ-токсин разрушает эритроциты, лейкоциты и клетки соединительной ткани.

Золотистые стафилококки могут образовывать гистотоксины, к которым относятся энтеротоксины, вызывающие пищевую интоксикацию. Известно 6 энтеротоксинов (A, B, C, D, E, F), различающиеся по антигенным свойствам.

Некоторые стафилококки продуцируют экзотоксин, вызывающий синдром «токсического шока». Чаще всего данные стафилококки являются обитателями мочевых путей женщин.

Механизм действия этого токсина состоит в гиперактивации моноцитов и макрофагов с последующей гиперпродукцией ИЛ-1, ТНФ

(туморнекротизирующий фактор). Таким образом, данный токсин обладает всеми свойствами, присущими суперантигенам. Он представляет собой белок, образование которого кодируется хромосомными и плазмидными генами (профагом), находящимся в бактериальной хромосоме. Наряду с опосредованным действием данный экзотоксин оказывает прямое действие на кровеносные капилляры, увеличивая их проницаемость. Заболевание часто заканчивается летальным исходом.

Патогенез. Преимущественное значение в патологии человека имеет золотистый стафилококк. В организм человека он может проникать различными путями. Стафилококки обладают полиорганным тропизмом, связанным с их способностью адгезировать на рецепторах клеток разных тканей и органов человека. Их пантропность выражается в способности вызывать гнойно-воспалительные процессы в коже, подкожной клетчатке, лимфоузлах (фурункулы, карбункулы, маститы, абсцессы и др.), респираторном тракте (бронхиты, пневмонии, плевриты), ЛОР-органах (отиты, ангины, гаймориты, тонзиллиты и др.), органах зрения (конъюнктивиты, язвы роговицы), желчевыводящих путях (холециститы, холангиты и др.), мочеполовых органах (гломерулонефриты, уретриты, простатиты и др.), опорно-двигательном аппарате (остеомиелиты, артриты, миозиты), а также пищевые отравления. Генерализация любой формы местного процесса может привести к сепсису или септикопиемии. Острые кишечные заболевания (ОКЗ) стафилококки вызывают у новорожденных. Стафилококки могут вызывать тяжелые формы ОКЗ, а также менингиты у детей младшего возраста.

Иммунитет. Организм здорового человека обладает значительной устойчивостью к стафилококкам. После перенесенной стафилококковой инфекции в крови появляются антитоксины. Обнаружение антитоксина свидетельствует о напряженности иммунитета к стафилококкам. Наличие в крови человека α-антитоксина в титре больше 2 МЕ указывает на недавно перенесенное заболевание стафилококковой этиологии.

При контакте с широко распространенными в окружающей среде стафилококками, а также в результате перенесенных заболеваний индуцируется гуморальный иммунный ответ, в результате которого образуются антитела на антигены микробных клеток, токсины и ферменты. Клеточный иммунный ответ проявляется в подавлении фагоцитоза. Устойчивость к фагоцитозу у вирулентных штаммов S. aureus, возможно, связана с их способностью образовывать капсулу in vivo, а также с продукцией коагулазы, образующей вокруг бактерий фибрин. Белок А препятствует фагоцитозу, связываясь с Fc-участками IgG. В ряде случаев наблюдается специфическая сенсибилизация организ-

мов. Определенное значение при стафилококковых инфекциях имеют секреторные IgA, обеспечивающие местный иммунитет слизистых оболочек.

Экология и эпидемиология. Стафилококки широко распространены в природе. Они обнаруживаются на коже и слизистых оболочках человека, встречаются у животных. Каждый вид стафилококка подразделяется на экологические варианты (эковары). Вид S. aureus включает 6 эковаров: А, В, С, D, Е и F. Основными хозяевами этих эковаров являются соответственно человек, свинья, домашняя птица, крупный рогатый скот, овцы, зайцы, собаки и голуби. Резервуаром золотистого стафилококка служат здоровые носители и больные с различными стафилококковыми поражениями. Наибольшую опасность в смысле распространения стафилококков представляют бактерионосители, у которых патогенные стафилококки обнаруживают на слизистой верхних дыхательных путей, особенно передних отделов носовых ходов, а также больные люди с кожными поражениями. Стафилококки достаточно резистентны к факторам окружающей среды. Они хорошо переносят высушивание, длительное время остаются жизнеспособными в пыли.

Лабораторная диагностика. Исследуемый материал (гной) подвергают бактериоскопическому исследованию и высевают на питательные среды. Кровь, мокроту, фекалии исследуют бактериологическим методом. После выделения чистой культуры по ряду признаков определяют видовую принадлежность. В случае выделения Staphylococcus aureus определяют плазмокоагулазу (*рис. 20.4 на цв. вкладке*), гемолизин, А-протеин. Для установления источника и путей распространения инфекции, выделенные культуры фаготипируют. Лабораторный анализ непременно включает определение чувствительности выделенной культуры или культур к антибиотикам (схема 20.1).

Профилактика и лечение. Профилактика заболеваний, вызываемых стафилококками, включает несколько направлений. К ним относятся меры борьбы с источником инфекции, которыми являются люди, страдающие гнойно-воспалительными процессами и бактерионосители, при лечении которых возникают определенные трудности. Особенно важно в комплексе профилактических мероприятий предупреждение стафилококковых заболеваний в лечебных учреждениях. Это прежде всего организация режима работы отделений больниц. Отделения, в которых находятся больные с открытыми гнойно-воспалительными процессами, должны обслуживаться отдельным персоналом.

Для предупреждения возникновения стафилококковых заболеваний у лиц, подвергающихся риску травматизма или инфицирования, рекомендуется использовать метод иммунизации сорбированным анатоксином или введение иммуноглобулина.

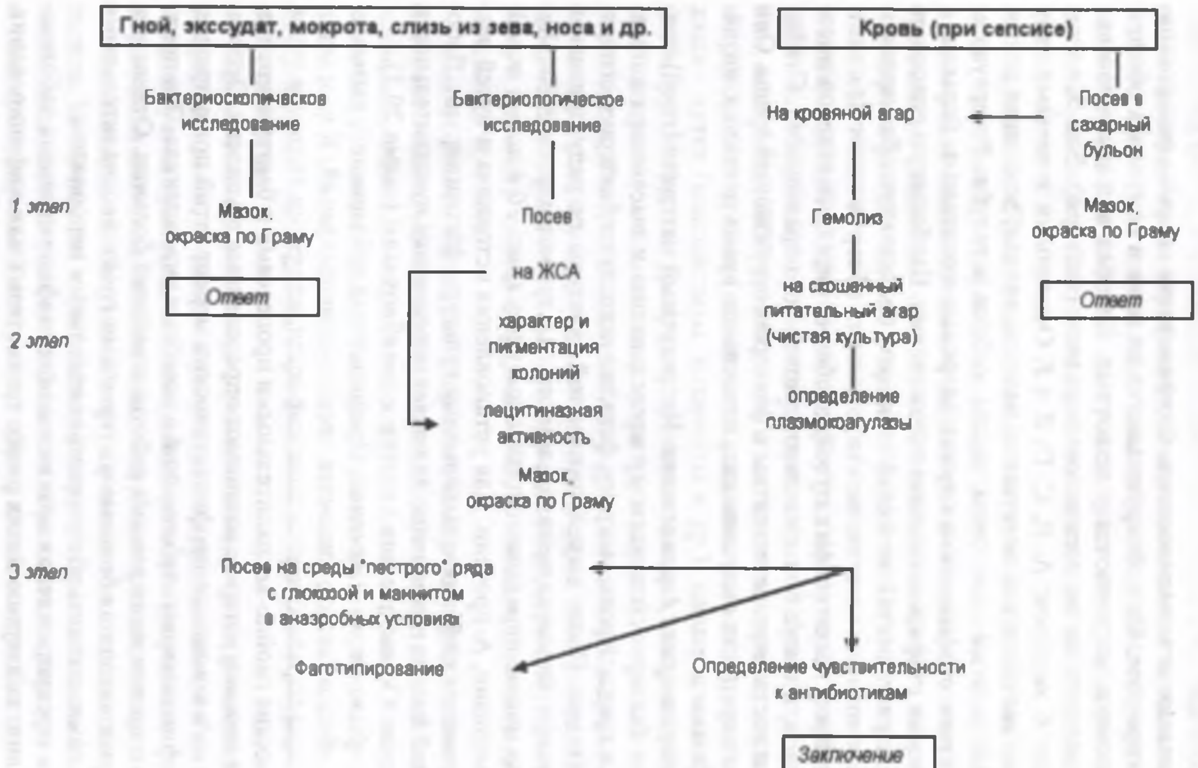


Схема 20.1. Микробиологические исследования при стафилококковых инфекциях

Особая проблема — профилактика стафилококковых заболеваний у новорожденных. У них еще до настоящего времени стафилококк является одним из главных возбудителей инфекции. В данном случае в профилактику включают иммунизацию рожениц стафилококковым анатоксином, а также проведение количественного и качественного анализа обсемененности молока родильниц с целью более строго подхода к переводу новорожденного на вскармливание кипяченым грудным молоком. В норме в женском молоке содержится три класса иммуноглобулинов — IgG, IgM и IgA, которые разрушаются при кипячении.

Для лечения стафилококковых инфекций применяют антибиотики, выбор которых определяется чувствительностью выделенной культуры к определенным препаратам. Из них наибольшее значение имеют β-лактамные препараты (оксициллин, метициллин и др.). В последние годы появились метициллиноустойчивые штаммы. Их устойчивость в отличие от других штаммов не контролируется R-плазмидами, а объясняется хромосомными мутациями. Для лечения таких больных применяют ванкомицин и фторхинолоны.

Кроме того, для лечения стафилококковых инфекций используют цефалоспорины 1 и 2 поколений, реже тетрациклины. При сепсисе наряду с антибиотиками вводят противостафилококковый Ig. Для лечения хронических стафилококковых инфекций (хронический сепсис, фурункулез и др.) используют анатоксин, аутовакцину, стимулирующие синтез антитоксических и антимикробных антител.

20.1.1.2. Стрептококки

Обнаружены Т. Бильротом в 1874 г. при рожистом воспалении и через несколько лет Л. Пастером при гнойных заболеваниях и сепсисе. Род Streptococcus включает многочисленные виды, которые различаются между собой по экологическим, физиологическим и биохимическим признакам, а также патогенности для человека.

Морфология, физиология. Клетки шаровидной или овальной формы, расположенные попарно или в виде цепочек разной длины (*рис. 20.1 на цв. вкладке*). Грамположительны. Хемоорганотрофы. Требовательны к питательному субстрату. Размножаются на кровяных или сахарных средах. На поверхности твердых сред образуют мелкие колонии, на жидких дают придонный рост, оставляя среду прозрачной. По характеру роста на кровяном агаре различают α-гемолитические стрептококки, окруженные небольшой зоной гемолиза с зеленовато-сероватым оттенком, β-гемолитические, окруженные прозрачной зоной гемолиза (*рис. 20.4 на цв. вкладке*), и негемолитические, не изменяющие кровяной агар. Однако гемолитический признак оказался весьма вариабельным, вследствие чего для дифференциально-диагностических целей используется с осторожностью.

Таблица 20.1

Дифференциальные признаки видов стрептококков

Признак	S. pyogenes	S. pneumoniae	S. faecalis
Расщепление			
лактозы	+	+	+
маннита	–	–	+
глицерина	–	–	+
салицина	+	–	+
Размножение в средах			
с 40% желчи	–	–	+
с 6,5% хлорида натрия	–	–	+
Образование			
О-стрептолизина	+	–	–
S-стрептолизина	+	+	–
стрептокинызы	+	–	+
гиалуронидазы	+	+	+
протеиназы	+	+	–
ДНКазы	+	+	+
каталазы	–	–	–
Обозначения: «+» — 90% штаммов положительны; «–» — 90% штаммов отрицательны; «+–» — признак непостоянен, имеется не у всех штаммов			

Ферментация углеводов не является стабильным и четким признаком, вследствие чего он не используется для дифференцировки и идентификации стрептококков. Стрептококки аэробы, не образуют каталазы, в отличие от стафилококков (табл. 20.1).

Антигены. Стрептококки имеют несколько типов антигенов (рис. 20.5), позволяющих дифференцировать их друг от друга. По Р. Лэндсфилд (1933 г), их подразделяют на 17 серогрупп по полисахаридным антигенам, которые обозначаются заглавными латинскими буквами А, В, С, D, Е, F и т.д. К самой многочисленной серогруппе А относится вид S.pyogenes. Дифференциация на серотипы проводится по белковому М-антигену. Сейчас насчитывается свыше 100 серотипов стрептококков серовара А (рис. 20.5).

У некоторых стрептококков этой серогруппы обнаружены перекрестнореагирующие антигены (ПРА). Антитела к ним реагируют с мышечными волокнами миокарда, тканью почки и других органов человека. ПРА могут стать причиной иммунопатологических состояний.

Рис. 20.5. Антигенная структура стрептококков

Экология и эпидемиология. Стрептококки сравнительно широко распространены в природе. По экологическому признаку их можно подразделить на несколько групп.

К первой группе относят стрептококки серогруппы A, патогенные только для человека (S. pyogenes).

Вторую группу составляют патогенные и условно-патогенные стрептококки серогруппы B и D (S. agalactia, S. faccalis и др.), патогенные для людей и животных.

Третья экологическая группа — это условно-патогенные оральные стрептококки (S. mutans, S. mitis и др.). Таким образом, одни стрептококки вызывают только антропонозные инфекции, другие — антропозоонозные инфекции.

В организме человека стрептококки обитают в экологических нишах: полость рта, верхние дыхательные пути, кожа и кишечник. Источником инфекции являются здоровые бактерионосители, реконвалесценты и больные люди. Основной путь распространения возбудителя — воздушно-капельный, реже контактный.

Во внешней среде стрептококки сохраняются в течение нескольких дней. При нагревании до 50°C они погибают через 10–30 мин.

Лабораторная диагностика. Материал для исследования: гной, слизь из зева и носа, моча и др. — подвергают бактериоскопическому исследованию (схема 20.2). Для этого готовят мазки, которые окрашивают по Граму. Бактериологическое исследование проводят путем посева исследуемого материала на чашки Петри с кровяным агаром. Выросшие колонии характеризуют по наличию или отсутствию гемолиза. Заключительным этапом бактериологического исследования является идентификация выделенной культуры по антигенным свойствам в реакции преципитации с полисахаридным преципитиногеном, выделенным из исследуемой культуры, и антисыворотками к серотипам A, B, D. При подозрении на сепсис делают посевы крови.

Серологическое исследование проводят для подтверждения диагноза ревматизма. С этой целью определяют наличие антител к O-стрептолизину в РСК или реакции преципитации, а также C-реактивного белка. В последние годы для диагностики стрептококковых инфекций используют ПЦР.

С х е м а 20.2. Микробиологические исследования при стрептококковых инфекциях

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика стрептококковых инфекций не разработана вследствие неэффективности полученных вакцин и эритрогенного анатоксина (против скарлатины). В настоящее время разрабатывается вакцина против кариеса. Лечение проводится главным образом антибиотиками.Резистентность стрептококков к различным антибиотикам, в том числе и к пенициллину, развивается медленно. Это дает возможность использовать многие бета-лактамные антибиотики, в том числе бензилпенициллин. Из других антибиотков применяют цефалоспорины 1 и 2 поколений, аминогликозиды, макролиды.

Стрептококки серогруппы А

Типичный представитель — S. pyogenes (*рис. 20.6 на цв. вкладке*), вызывающий многочисленные гнойно-воспалительные процессы в разных органах и тканях, воспаления, не сопровождающиеся обильным гноеобразованием, а также генерализованные формы инфекции — сепсис.

Патогенность. Вирулентность стрептококков, также как и других бактерий, связана с адгезией, колонизацией, инвазией и подавлением фагоцитоза (агрессивностью), а также с секрецией токсинов и ферментов, нарушающих нормальную физиологическую деятельность тканей. Наряду с непосредственным действием бактериальных клеток и продуктов их секреции на клетки организма человека, которое начинается с лигандо-рецепторных взаимодействий между ними, существенное значение при многих стрептококковых заболеваниях имеет их иммуноопосредованное действие. Адгезия стрептококков на рецепторах чувствительных клеток происходит за счет капсульных полисахаридов, а также М- и F-белков, экспрессия которых связана с содержанием O_2 и CO_2 в окружающей среде. При высоком содержании O_2 F-белок обеспечивает адгезию к эпителию респираторного тракта и к клеткам Лангерганса кожи, при обычных концентрациях O_2 и CO_2 экспрессируется только М-белок, обеспечивающий адгезию к кератоцитам и подавление фагоцитоза. К веществам, препятствующим фагоцитозу, относятся также капсульные полисахариды, протеин М и выделяющийся в процессе деления клеток (антихемотаксический фактор). Последний подавляет хемотаксис фагоцитов, препятствуя тем самым фагоцитозу.

Наличие Fc-рецепторов в М-протеине приводит к связыванию и блокированию аналогичного рецептора иммуноглобулинов, ответственного за эффекторную функцию, что также подавляет фагоцитоз. S. pyogenes , обладающие инвазивной активностью, распространяются из очага инфекции, вызывая генерализованные ее формы вплоть до сепсиса. Токсические свойства стрептококков определяются продуцируемыми ими токсинами и ферментами.

К токсинам, продуцируемым S. pyogenes, относятся:

О-стрептолизин — термолабильный белок, выделяемый при размножении клеток, вызывает лизис эритроцитов, разрушает мембраны других клеток, а также мембраны лизосом. Обладает кардиотоксическим действием и является антигеном. К нему синтезируются анти-О-стрептолизины.

S-стрептолизин — нуклеопротеид, не обладающий антигенными свойствами, лизирует эритроциты, разрушает лизосомы. Освобождающиеся при этом ферменты вызывают деструкцию тканей и разрушают мембрану митохондрий (см. табл. 20.1).

Цитотоксины — пептиды, повреждающие клетки некоторых тканей.

Им приписывают прямое и иммуноопосредованное действие на почечные клубочки, что приводит к развитию гломерулонефрита. Чаще всего при данном заболевании выделяют S. pyogenes 12 серотипа, который называют нефритогенным стрептококком.

Кардиогепатический токсин, секретируемый некоторыми штаммами S. pyogenes, участвует в поражении миокарда и образовании гранулем в печени.

Эритрогенные токсины (эритрогенины) — продуцируются только лизогенными штаммами стрептококков трех серогрупп: А, В и С. Это объясняется тем, что образование эритрогенина контролируется генами профага, содержащимися в хромосоме несущих их стрептококков. Механизм действия эритрогенных токсинов разнообразен: он состоит в нарушении контактов между отдельными клетками и межклеточным веществом, в непосредственном действии на гипоталамус, проявляющемся в пирогенной активности. Вместе с тем эритрогенин оказывает иммуноопосредованное действие на организм, тем самым вызывая появление кожных высыпаний ярко-красного цвета. Кроме того, он стимулирует образование макрофагами интерлейкина-1 и туморнекротизирующего фактора, индуцирующих около 50% Т-лимфоцитов, проявляя свойства суперантигена, и вызывает гиперчувствительность замедленного и иммунокомплексного типов.

Из ферментов, продуцируемых S. pyogenes, следует выделить *стрептокиназу (фибринолизин),* способствующую растворению фибрина, ограничивающего местный воспалительный очаг, нарушение которого может привести к генерализации инфекции; *и гиалуронидазу*, обеспечивающую инвазию бактерий, которая обладает антигенными свойствами. Кроме того, стрептококки секретируют *ДНК-азу, РНК-азу, АТФ-азу*, роль которых в патогенезе стрептококковых инфекций не совсем ясна. Полагают, что эти ферменты подавляют активность фагоцитов.

Патогенез. Как уже указывалось, стрептококки серогруппы А могут вызывать как нагноительные, так и ненагноительные инфекции.

К первым относятся ангина, абсцессы, флегмона, гаймориты, фронтиты, лимфадениты, циститы, пиелиты и др.; ко вторым — рожистое воспаление, стрептодермия, импетиго, скарлатина, острая ревматическая инфекция, гломерулонефрит, токсический шок, сепсис и др.

Возбудитель скарлатины

Возбудителем скарлатины является S. pyogenes серогруппы А (*рис. 20.6 на цв. вкладке*). Однако в последние десятилетия часто встречаются стрептококки серогрупп В и С. Независимо от принадлежности к той или другой серогруппе все они секретируют эритрогенный токсин, определяющий симптомокомплекс скарлатины.

Патогенез и иммунитет. Скарлатина — острое инфекционное заболевание, характеризующееся ангиной, общей интоксикацией, появлением точечных высыпаний на шее и груди ярко-красного цвета, от чего и произошло название (*scarlatinum* — красный цвет). Скарлатинозный синдром определяется полифункциональными свойствами эритрогенного токсина, которые были описаны выше, а также аллергенами самих стрептококков. Их иммуноопосредованным действием объясняются характерные кожные высыпания, развитие ГЗТ и другие явления. После перенесения заболевания формируется напряженный антитоксический иммунитет, свидетельствующий о гуморальном иммунном ответе, а аллергизация организма указывает на клеточный иммунный ответ, который появляется в ГЗТ. При этом первый период заболевания характеризуется интоксикацией организма, второй — развитием аллергических и септических явлений. Об этом свидетельствует внутрикожная проба, разработанная супругами Дик в 20-х годах. При внутрикожном введении эритрогенного токсина в месте инъекции возникает воспалительная реакция в виде покраснения и припухлости (положительная реакция Дика), свидетельствующая об отсутствии иммунитета к скарлатине. У лиц, перенесших скарлатину, наблюдается отрицательная реакция вследствие нейтрализации токсина и отсутствия ГЗТ.

Экология, эпидемиология, диагностика. Скарлатина — типичная антропонозная инфекция, которой болеют дети от 1 года до 8 лет. Инфекция передается воздушно-капельным путем, вследствие вегетации возбудителя в зеве. Большое значение в эпидемиологии скарлатины имеет бактерионосители и больные антипичными формами. Скарлатину диагносцируют главным образом по клинической картине. В некоторых случаях используют бактериологическое исследование.

Профилактика и лечение. Отсутствие вакцинопрофилактики связано с неэффективностью анатоксина, полученного из эритрогенного токсина. Ослабленным детям вводят иммуноглобулин. Лечение проводят антибиотиками, преимущественно бета-лактамами.

Роль стрептококков в этиологии ревматической инфекции и гломерулонефрита

В возникновении и развитии этих заболеваний ведущая роль принадлежит S. pyogenes серогруппы А и иммуноопосредованным механизмам. Об этом свидетельствуют наблюдения, указывающие, что упомянутые заболевания возникают у лиц, ранее страдающих хроническими заболеваниями глотки или миндалин стрептококковой этиологии. В патогенезе ревматической инфекции возможно участие аутоиммунных процессов, связанных с наличием у стрептококка ПРА, гиперчувствительности иммунокомплексного типа, и возможно персистенция L-форм стрептококка. Образование иммунных комплексов приводит к повреждению межуточного вещества соединительной ткани, освобождению биологически активных веществ (гистамин и др.) и развитию воспалительной реакции. Таким образом, основному заболеванию предшествуют тонзиллиты и фарингиты, которые приводят к первичной сенсибилизации организма с последующим формированием состояний гиперчувствительности разных типов с явлениями ревматического полиартрита, поражением мышечной ткани и сердечных клапанов, Острый гломерулонефрит так же, как и ревматическая инфекция возникает после перенесенных хронических стрептококковых заболеваний. В отличие от ревматизма гломерулонефрит может развиваться после кожной формы стрептококковой инфекции, а в патогенезе данного заболевания ведущее значение имеет гиперчувствительность иммунокомплексного типа.

Стрептококки серогруппы В

Типичным представителем данной серогруппы является *S. agalactia*, вызывающий послеродовые и урогенитальные инфекции, маститы и вагиниты у женщин, сепсис и менингиты у новорожденных.

В отличие от S. pyogenes S. agalactia содержит другой групоспецифический антиген. Кроме того, он имеет подвариантные антигены, связанные с сиаловой кислотой клеточной стенки, что позволило подразделить их на ряд подвариантов: I, Ia, II и III. По другим признакам эти стрептококки не отличаются от стрептококков серогруппы А.

Стрептококки серогруппы С

Встречаются при респираторных инфекциях, заболеваниях мочеполовой системы и некоторых других.

Стрептококки серогруппы D

Вызывают раневую инфекцию, гнойно-воспалительные заболевания желчно-выводящих путей, эндокардиты, перитониты, уроин-

фекции. К данной серогруппе относится *S. faecalis* (энтерококк), обитающий в кишечнике человека и не фекальные стрептококки (см. табл. 20.1), которые существенно отличаются от других видов стрептококков рядом признаков.

Вид S. faecalis или энтерококк является обитателем кишечника человека. Он рассматривается как условно-патогенный микроорганизм, имеющий санитарно-показательное значение. Внутри вида выделено 11 подвариантов, которые вызывают перечисленные инфекции чаще всего в ассоциациях с кишечной палочкой, протеем, золотистым стафилококком.

S. faecalis вызывает также пищевые токсикоинфекции при употреблении зараженных пищевых продуктов, в которых он может размножаться даже при комнатной температуре. Большинство штаммов энтерококков устойчиво к бета-лактамным антибиотикам 1 и 2 поколений.

Зеленящие стрептококки группы viridans, лишенные группоспецифического антигена

К ним относятся S. pneumoniae (*рис. 20.6 на цв. вкладке*) и группа оральных стрептококков (S. mutans, salivarium и др.).

Они отличаются от S. pyogenes образованием мембранотоксина с α-гемолитической активностью, который выявляется на кровяном агаре неполным гемолизом эритроцитов с зеленоватым оттенком. Продуцируют полисахаридный адгезин, способствующий прилипанию бактерий к сердечным клапанам и зубам.

Возбудители пневмонии

Морфология и физиология. Диплококки, имеющие вытянутую форму в виде ланцета. Каждая пара кокков окружена выраженной капсулой (*рис. 20.7 на цв. вкладке*), под которой располагается М-протеин иной антигенной специфичности, чем таковой S. pyogenes. Растет на кровяных средах, образуя мелкие колонии, окруженные неполной зоной гемолиза (α-гемолиз).

Антигены. S. pyogenes содержит поверхностный полисахаридный капсульный антиген, полисахаридный антиген клеточной стенки и М-протеин. По капсульному полисахаридному антигену выделяют свыше 85 серотипов.

Патогенность и патогенез. Способность к адгезии обуславливают капсульные полисахариды и М-белок. Факторами вирулентности являются гемолизины и секретируемые пневмококком ферменты: пептидаза, расщепляющая секреторный IgA, гиалуронидаза, способствующая распространению стрептококка в тканях, агрессины, подавляющие фагоцитоз, к которым относится и протеин М. Инфицирование пневмококками слизистых оболочек респи-

раторного тракта чаще происходит при нарушении их целостности разными вирусами (риновирусами, аденовирусами и др.). Пневмококки как и другие стрептококки являются внеклеточными паразитами, колонизирующими клеточную поверхность отдельных участков респираторного тракта. При этом они вызывают бронхиты, пневмонию, реже бактериемию, а у некоторых больных септицемию и менингит. Генерализованные формы чаще встречаются у маленьких детей и пожилых людей.

Иммунитет. Постинфекционный иммунитет малонапряженный и носит типоспецифический характер. Нередко встречаются вторичные инфекции.

Экология и эпидемиология. Пневмония антропонозная инфекция. Стрептококки вегетиуют на слизистых оболочках верхних дыхательных путей. Заражение происходит воздушно-капельным путем. Частота носительства увеличивается при длительном контакте с больным или носителем. Хотя естественным хозяином пневмококка является человек, известны случаи заболевания домашних животных. Полагают, что заражение животных происходит от человека.

Лабораторная диагностика. В основном проводят бактериологическое исследование и биопробу для выделения чистой культуры с последующей ее идентификацией (схема 20.3).

Профилактика и лечение. Для вакцинопрофилактики применяют поливалентную полисахаридную вакцину, для лечения применяют разные антибиотики (бета-лактамы, макролиды и др.)

Оральные стрептококки

К ним относятся S. mutans, S. mitis, S. sanguis, S. salivarius и другие, участвующие в формировании зубных бляшек (*см. рис. 25.5*). Зубные бляшки — это скопление бактерий в матриксе органических веществ, главным образом, протеинов и полисахаридов, содержащихся на поверхности зубов. Различают над- и поддёсневые бляшки. Первые имеют патогенетическое значение при развитии кариеса, вторые — пародонта. При формировании зубных бляшек особая роль принадлежит оральным стрептококкам. Так, в течение 8 ч количество клеток S. sanquis в бляшках достигает 15–30%, а ко второму дню — 70%.

S. salivarius в бляшках обнаруживаются в течение первых 15 мин. Затем к ним присоединяются другие бактерии.

Наибольшее значение в развитии кариеса имеют оральные стрептококки S. mutans, S. sanquis, S. mitis и другие бактерии. Они ферментируют многие углеводы, снижая pH до критического уровня (pH = 5 и ниже).

В пародонте воспалительные процессы начинаются с образования зубных бляшек, в поверхностных слоях которых находятся, главным образом, S. mutans (*см. главу 25*).

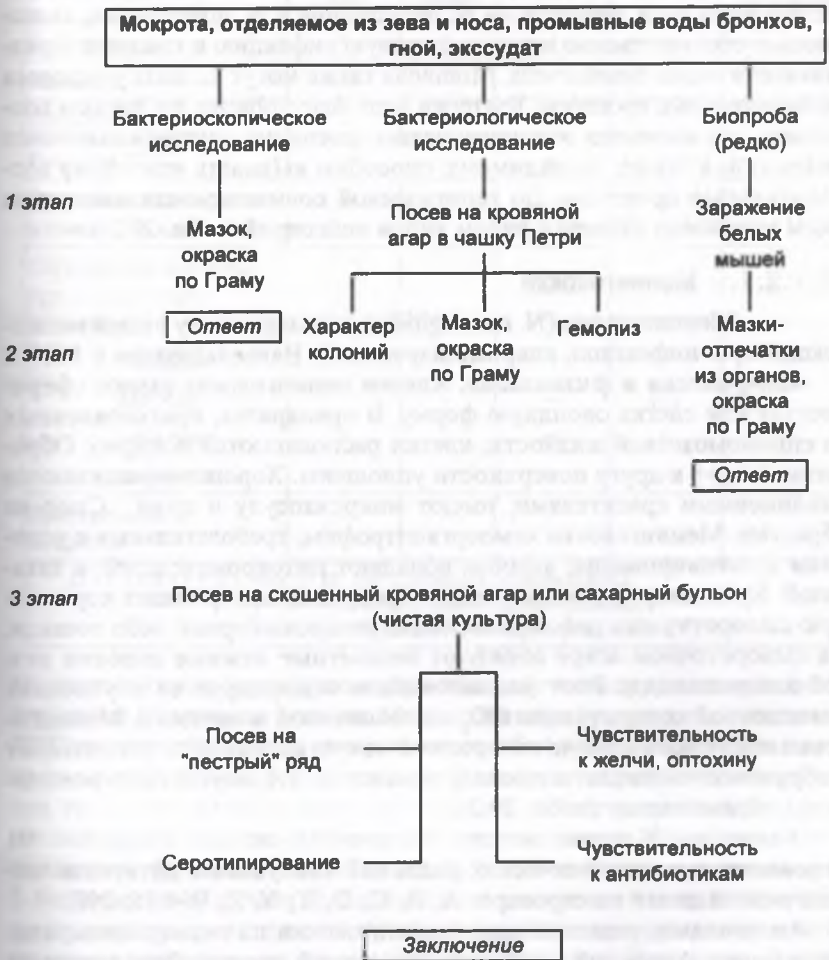


Схема 20.3. Микробиологические исследования при пневмонии, вызванной стрептококками пневмонии

20.1.2. Грамотрицательные кокки

Грамотрицательные кокки, диплококки, коккобактерии относятся к четырем родам. Основное значение в патологии человека имеют два вида рода Neisseria — N. meningitidis и N. gonorrhoeae, вызывающие соответственно менингококковую инфекцию и гонорею. Представители родов Branhamella, Moraxella также могут вызвать у человека воспалительные процессы. Бактерии рода Acinetobacter, по данным последних лет, являются этиологическим фактором внутрибольничных инфекций, а также, по-видимому, способны вызывать некоторые воспалительные процессы. По генетической совместимости некоторые виды моракселл сходны с рядом видов нейссерий (табл. 20.2.).

20.1.2.1. Менингококки

Менингококки (N. meningitidis), вызывающие у людей менингококковую инфекцию, впервые изучены А. Вaксельбаумом в 1887 г.

Морфология и физиология. Клетки менингококка имеют сферическую или слегка овоидную форму. В препаратах, приготовленных из спинномозговой жидкости, клетки располагаются попарно. Обращенные друг к другу поверхности уплощены. Хорошо окрашиваются анилиновыми красителями, имеют микрокапсулу и пили. Спор не образуют. Менингококки хемоорганотрофны, требовательные к условиям культивирования; аэробы, обладают цитохромоксидзой и каталазой. Культивируют менингококки на средах, содержащих нормальную сыворотку или дефибринированную кровь барана либо лошади. На сывороточном агаре образуют бесцветные нежные колонии вязкой консистенции. Рост менингококков стимулируется в условиях повышенной концентрации CO_2 и повышенной влажности. Менингококки проявляют слабую сахаролитическую активность, расщепляют с образованием кислоты глюкозу и мальтозу. Образуют гиалуронидазу и нейраминидазу (табл. 20.2).

Антигены. У менингококков различают несколько антигенов. На основании иммунохимических различий капсульных антигенов менингококки делят на серовары А, В, С, D, X, Y, Z, W-135, 29E.

Антигенами, разделяющими менингококки на подварианты, являются белки наружной мембраны клеточной стенки. Эти антигены обозначают арабскими цифрами. Заболевание чаще всего вызывают менингококки сероваров А, В и С. Менингококки серовара А наиболее часто встречаются при генерализованных формах инфекции.

Патогенность и патогенез. Факторами вирулентности менингококков являются капсульные полисахариды, обеспечивающие их резистентность к фагоцитозу, пили, с помощью которых бактерии прикрепляются к рецепторам эпителиальных клеток. Адгезивную функцию несут также белки наружной мембраны клеточной стенки.

Таблица 20.2

Дифференциальные признаки некоторых видов Neisseria и Bronhamella catarrhalis

Признак	N.meningitidis	N.gonorrhoeae	N.subflava	N.mucosa	Branhamella catarrhalis
Каталаза	+	+	+	+	+
Оксидаза	+	+	+	+	+
Пигмент	−	−	+	−	−
Рост при 22°C	−	−	+	+	+
Потребность для роста в сыворотке или крови	+	+	−	−	−
Образование кислоты при расщеплении углеводов:					
глюкозы	+	+	+	+	−
лактозы	−	−	−	(+)	−
мальтозы	+	−	+	−	−
сахарозы	−	−		−	−
Восстановление нитратов	−	−	−		−

Обозначения: «+» — 85–100% штаммов положительны;
«+–» — 16–84% штаммов положительны;
«(+)» — положительная замедленная реакция

Менингококки продуцируют нейраминидазу и гиалуронидазу, способствующие их инвазии в ткани. Менингококки образуют эндотоксин — ЛПС клеточной стенки, который часто обнаруживается у больных в крови и спинномозговой жидкости. Он играет ведущую роль в развитии генерализованных форм инфекции и может вызвать эндотоксический шок. Высокие концентрации эндотоксина в крови приводят к снижению фракций комплемента (C2, C3 и C4) в несколько раз. В большинстве случаев попадание менингококков на слизистую оболочку верхних дыхательных путей не вызывает заметных нарушений, но может привести к возникновению носительства. Только иногда (15–19% случаев) попадание возбудителя на слизистую оболочку носа, глотки и, возможно, бронхов приводит к развитию воспаления. Возбудитель может попадать в кровь, и тогда возникает бактериемия, которая сопровождается распадом менингококков. Это приводит к токсемии, играющей важную роль в патогенезе болезни. В большинстве случаев бактериемии менингококк проникает в мозговые оболочки и вызывает развитие менингита или менингоэнцефалита. Менингококковая инфекция может быть локальной, протекающей в виде

носительства менингококков, острого назофарингита, менингококковой пневмонии, а также генерализованной формы. К последней относятся менингококкемия, менингококковый менингит или эпидемический цереброспинальный менингит, менингоэнцефалит, менингококковый эндокардит, артрит или полиартрит и иридоциклит.

Иммунитет. Постинфекционный иммунитет при генерализованных формах достаточно напряженный, повторные заболевания и рецидивы возникают редко. При генерализованных формах уменьшается содержание Т-лимфоцитов, что коррелирует с тяжестью болезни. Ко второй неделе отмечается повышение количества В-лимфоцитов. Иммунный ответ организма в значительной степени зависит от интенсивности образования антител к различным антигенам клетки (полисахаридам и белкам). Полисахаридные антигены сероваров А и С обладают высокой иммуногенностью, полисахариды серовара В почти неиммуногенны. Антитела от иммунизированной матери могут передаваться плоду трансплацентарным путем и обнаруживаются в 50% случаев. Их удается определить только в течение 2–5 мес. после рождения ребенка.

Экология и эпидемиология. Естественный хозяин менингококков — человек. Менингококки вегетируют на слизистой оболочке носоглотки. Среди людей широко распространено носительство менингококков, которое может быть коротким (2–3 недели) и более длительным, особенно при наличии воспалительных процессов в носоглотке. Источником инфекции является человек — больной или носитель. От человека к человеку менингококки передаются воздушно-капельным путем. Риск заражения увеличивается при длительном контакте.

Лабораторная диагностика. В зависимости от клинической формы менингококковой инфекции материалом для исследования служит спинномозговая жидкость при подозрении на менингит, кровь — при подозрении на менингококкемию. Материал из носоглотки и осадок спинномозговой жидкости сразу после взятия засевают на сывороточный или кровяной агар. Слизь из носоглотки засевают на две чашки, питательная среда одной из них должна содержать антибиотик ристомицин (или линкомицин) для подавления грамположительной флоры. Кровь засевают в полужидкий агар. Выросшую культуру идентифицируют по трем тестам, дающим возможность отнести ее к роду Neisseria. Это характерные морфологические свойства, отрицательная окраска по Граму и положительная реакция на оксидазу. Идентификация вида N. meningitidis проводится на основании комплекса свойств, представленных в табл. 20.2.

В связи с тем, что в носоглотке часто обитают другие нейссерии (N. subflava, N. sicca, N. mucosa), менингококки приходится дифференцировать от этих видов и от Branhamella catarrhalis. У идентифицированной культуры определяют серовар (схема 20.4). При симптомах

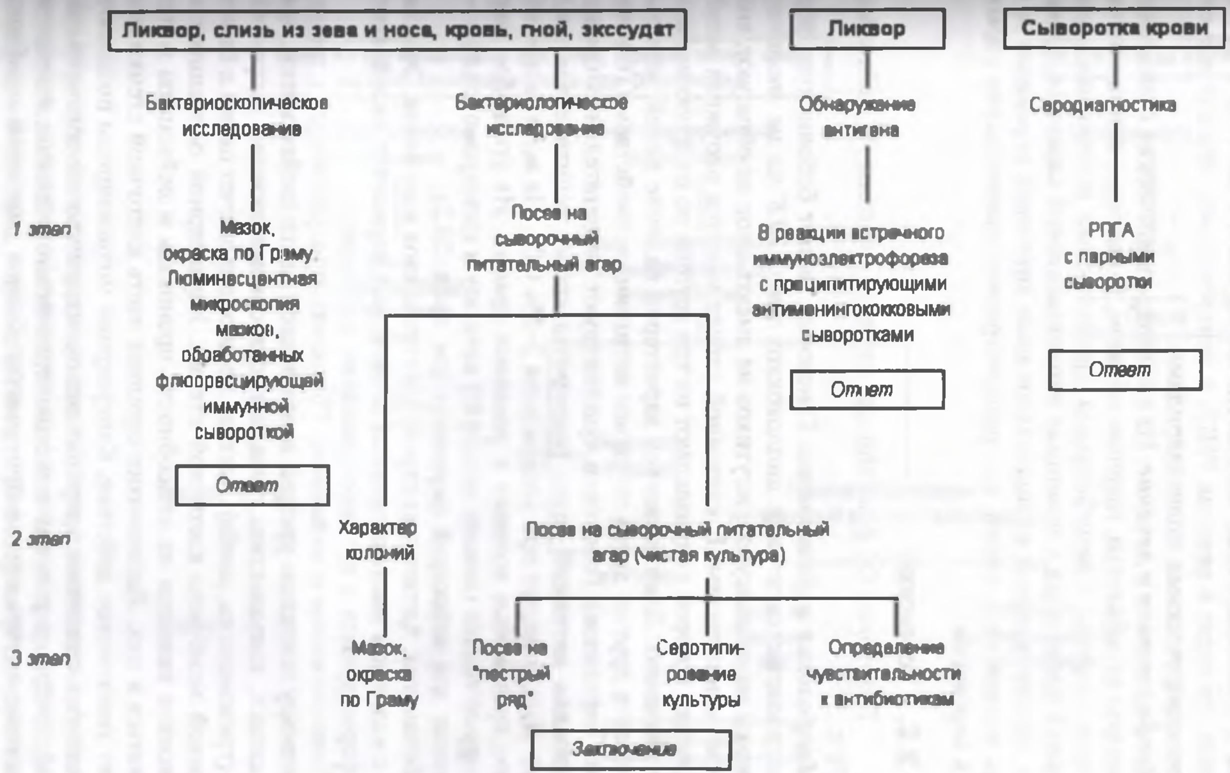


Схема 20.4. Микробиологические исследования при менингококковой инфекции и бактерионосительстве

менингита в качестве экспресс-диагностики определяют наличие антигена в спинномозговой жидкости. Обнаружение антител в крови больных проводят в реакции РНГА с эритроцитами, обработанными групоспецифическими полисахаридами.

Профилактика и лечение. Из химиотерапевтических препаратов применяют антибиотики, главным образом, β-лактамы, пенициллины и цефалоспорины. Специфическая профилактика менингококковой инфекции проводится с помощью менингококковой химической вакцины, приготовленной из полисахаридных антигенов сероваров А и С, тех коллективов людей, где распространено носительство упомянутых сероваров.

20.1.2.2. Гонококки

Гонококки (N. gonorrhoeae) впервые описаны А. Нейссером в 1879 г.

Морфология и физиология. Гонококки имеют бобовидную форму, располагаются в виде диплококков (*рис. 20.8 на цв. вкладке*), окружены микрокапсулой, жгутиков не имеют, спор не образуют, аналогично менингоккам. В клеточной стенке имеется наружная мембрана, белки которой подразделяют на три группы по их функциональному значению. Для гонококков характерно наличие пилей, которые отличаются друг от друга по своим антигенным свойствам (16 антигенных вариантов). Гонококки культивируют на питательных средах, содержащих нативный белок (сыворотка крови, асцитическая жидкость). Лучше растут при содержании 3–5% CO_2. На асцит-агаре образуют прозрачные колонии с ровными краями. Из углеводов ферментируют только глюкозу, образуют каталазу и цитохромоксидазу — типичные для нейссерий ферменты (см. табл. 20.2).

Антигены. Антигенная структура гонококков изменчива. Это связано с наличием многочисленных антигенных вариантов пилей, которые формируются в процессе развития инфекции.

Патогенность и патогенез. Гонококки прикрепляются к цилиндрическому эпителию уретры, влагалищной части шейки матки, прямой кишки, конъюнктиве глаза, а также сперматозоидам и простейшим (трихомонады, амеба). Адгезия происходит за счет пилей и белков наружной мембраны клеточной стенки. Характерной особенностью гонококков является их способность проникать в лейкоциты и размножаться в них. Липоолигосахаридная часть клеточной стенки оказывает токсическое действие. Капсулярные полисахариды подавляют фагоцитоз. Соединяясь с ворсинками цилиндрического эпителия слизистой уретры, а у женщин и эндоцервикального канала, гонококки проникают внутрь клеток при участии белков наружной мембраны клеточной стенки. Это приводит к развитию острого уретрита, цервицита и поражению у женщин шейки матки, придатков (трубы, яич-

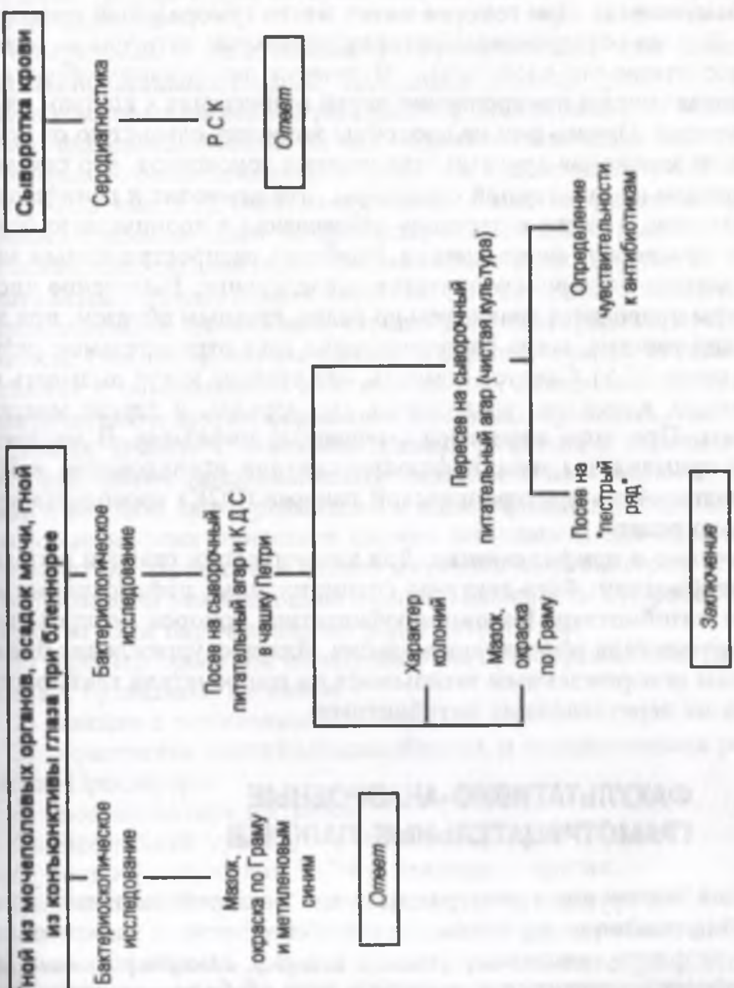


Схема 20.5. Микробиологические исследования при гонорее и бленнорее

ники), у мужчин семенных пузырьков, предстательной железы. При экстрагенитальной локализации гонококки могут повреждать прямую кишку и миндалины, а также вызывать бленнорею (конъюнктивит) у новорожденных. Заражение происходит во время прохождения родовых путей матери, больной гонореей.

Иммунитет. При гонорее имеет место гуморальный иммунный ответ. Однако образующиеся антибактериальные антитела не обладают протективными свойствами. В течение заболевания образуются IgA, подавляющие прикрепление пилей возбудителя к клеткам слизистой уретры. Однако они не способны защитить слизистую от последующего заражения другими генерациями гонококков, что связано с изменением их антигенной структуры. Это приводит к реинфекциям и рецидивам, а также к переходу заболевания в хроническую форму.

Лабораторная диагностика. Наиболее распространенным методом является бактериоскопическое исследование. Выделение чистой культуры проводится сравнительно редко, главным образом, при хронической гонорее, когда бактериоскопия дает отрицательные результаты (схема 20.5). Следует помнить, что уретрит могут вызывать стафилококки, хламидии, уреаплазмы, гарднереллы и другие микроорганизмы. При этом возможны смешанные инфекции. В настоящее время применяется иммунофлюоресцентное исследование и ЦПР. Серодиагностика при хронической гонорее (РСК) проводится сравнительно редко.

Лечение и профилактика. Для химиотерапии гонореи используют антибиотики: бета-лактамы (пенициллины, цефалоспорины) и другие антибиотики. Вакцинопрофилактика гонореи не проводится ввиду отсутствия эффективных вакцин. Для предупреждения бленнореи всем новорожденным закапывают на конъюнктиву глаза раствор одного из перечисленных антибиотиков.

20.2. ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ПАЛОЧКИ

Эта группа грамотрицательных бактерий включает семейства Enterobacteriaceae, Vibrioceae и Pasteurellaceae, а также несколько родов факультативно-анаэробных палочек. Микроорганизмы данной группы встречаются в природе в виде свободно живущих форм, а также в ассоциациях с людьми или животными. Многие виды патогенны для человека и животных, а некоторые — для насекомых и растений.

20.2.1. Семейство энтеробактерий (Enterobacteriaceae)

К семейству кишечных бактерий, или энтеробактерий, принадлежат микроорганизмы, для значительного большинства которых средой обитания является кишечник человека или позвоночных животных. Семейство включает 30 родов, из которых наиболее патогенными для человека являются Escherichia, Salmonella, Shigella, Proteus,

Klebsiella, Yersinia и др., которые подразделены на виды и ряде случаев на биовары.

Морфология и физиология. Микроорганизмы сем. Enterobacteriaceae представляют собой небольшие палочки (*рис. 20.9 на цв. вкладке*), которые хорошо окрашиваются анилиновыми красителями, грамотрицательны. Многие из них подвижны благодаря наличию перитрихиально расположенных жгутиков и имеют капсулу или микрокапсулу (*см. рис. 3.5*). Спор не образуют. У многих штаммов, принадлежащих к разным родам энтеробактерий (эшерихиям, сальмонеллам, шигеллам, клебсиеллам, протеям) выявлены пили (ворсинки), с которыми связаны их адгезивные свойства. Все энтеробактерии являются факультативными анаэробами, хорошо растут на средах с мясным экстрактом. Они обладают выраженной ферментативной активностью, связанной с образованием многочисленных сахаролитических, протеолитических и других ферментов, как конститутивных, так и индуцибельных. Вместе с тем наблюдаемые различия в перечисленных признаках имеют таксономическое значение и используются для родовой и видовой дифференциации и идентификации энтеробактерий. Некоторые из этих признаков служат основанием для определения отдельных биоваров среди одного и того же вида бактерий. К основным признакам, указывающим на принадлежность энтеробактерий к одному из пяти перечисленных родов, относятся:

1) характер продукта, образующегося при сбраживании глюкозы: кислоты, бутандиол, их смеси;

2) реакция с метиловым красным;

3) образование ацетилметилкарбинола и положительная реакция Фогеса–Проскауэра;

4) восстановление нитратов;

5) образование уреазы;

6) рост в присутствии KCN и некоторые другие.

Главными биохимическими признаками, служащими для определения родовой и видовой принадлежности энтеробактерий, являются их способность ферментировать различные углеводы до образования кислоты или газа, образование индола, сероводорода, декарбоксилаз аминокислот (лизина, орнитина и др.), утилизация цитрата и др. (табл. 20.3).

Антигены. Антигенное строение служит одним из существенных критериев, на которых основывается классификация, а также идентификация энтеробактерий. Различают три основных типа антигенов: 1) О-соматический антиген, 2) Н-жгутиковый антиген, 3) К-антигены. О-антиген является составной частью липополисахарида наружного слоя клеточной стенки (рис. 20.10). Специфичность О-антигена определяется детерминантными сахарами (гексозами и аминосахарами), ковалентно связанными с базисной частью ЛПС (см. строение

Таблица 20.3

Дифференциально-диагностические признаки разных родов семейства энтеробактерий

Признак	Escherichia	Shigella	Salmonella	Klebsiella	Proteus	Yersinia
Подвижность	+	–	+	–	+	в
Индолообразование	+	в	–	–	+	–
Наличие β галактозидазы	+	в	в	+	–	+
Реакция Фогеса–Проскауэра (на ацетилметилкарбинол)	–	–	–	–	–	–
Утилизация цитратов	–	–	+	+	в	–
Образование H_2S	–	–	+	–	в	–
Разложение мочевины (уреаза)	–	–	–	+	+	+
Декарбоксилирование лизина	в	–	+	+	–	–
Дезаминирование фенилаланина	–	–	–	–	+	–
Ферментация глюкозы с образованием газа	+	–	+	+	+	+
Ферментация лактозы	+	–	–	+	–	–
- " - сахарозы	в	–	–	+	в	–
- " - маннита	+	в	+	+	–	+

О б о з н а ч е н и я: «+» — постоянное обнаружение признака; «–» — постоянное отсутствие признака; «в» — вариабельное проявление признака

клеточной стенки). Н-антиген локализован в жгутиках клетки. Он состоит из белка флагеллина.

Капсульные К-антигены, так же как О-антигены, содержатся в ЛПС клеточной стенки, но в более поверхностном слое. Они маскируют О-антигены. В связи с этим для определения О-антигена у бактерий, обладающих К-антигеном, необходимо разрушить последний путем кипячения или автоклавирования культуры. К-антигены по химическим свойствам относятся к кислым полисахаридам. К К-антигенам относятся К-антигены E. coli, М-антигены Salmonella schottmuelleri, Vi-антиген возбудителя брюшного тифа, который обнаруживается также у S. parathyphi С и некоторых штаммов E. coli. Все эти антигены характеризуются иммунохимической специфичностью, что позволяет дифференцировать роды и виды, а также выделять среди них серогруппы и серологические варианты (сервары). Антигенное строение энтеробактерий изучают в реакциях агглютинации, непрямой (пассивной) гемагглютинации, преципитации, в частности при иму-

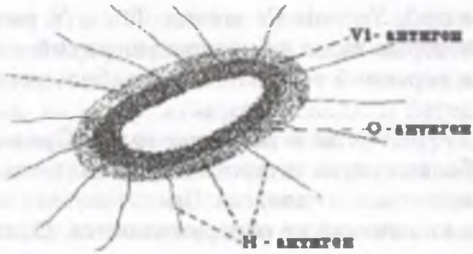


Рис. 20.10. Антигенная структура S.typhi

ноэлектрофорезе и других иммунологических реакциях с соответствующими диагностическими сыворотками.

Патогенность. Патогенное действие энтеробактерий связано с белками наружной мембраны, капсульным полисахаридом, пилями и разными токсинами. Вирулентность энтеробактерий определяется их адгезивной способностью, которая обусловлена положительным хемотаксисом между поверхностными структурами микроба и рецепторами эпителиальных клеток. Кроме того, адгезивность объясняется наличием у многих энтеробактерий пилей, а также структурой ЛПС. После «прилипания» к эпителиальным клеткам эшерихии, вызывающие дизентериеподобные коли-инфекции, и шигеллы проникают внутрь этих клеток и там размножаются: сальмонеллы размножаются в макрофагах лимфоидной ткани тонкой кишки (в пейеровых бляшках) и внутренних органах, а эшерихии — на поверхности клеток. Затем бактерии поступают в просвет кишки. Токсичность энтеробактерий обусловлена эндотоксином и экзотоксинами (энтеротоксинами и цитотоксинами). Первый представляет собой ЛПС клеточной стенки. Он освобождается только после разрушения бактериальных клеток. Энтеротоксигенные эшерихии продуцируют два типа энтеротоксина белковой природы, которые различаются чувствительностью к температуре. Их образование контролируется Ent-плазмидой. Термолабильный энтеротоксин, образуемый эшерихиями и шигеллами, по своим свойствам близок к холерогену, продуцируемому холерным вибрионом. Показано, что способность образовывать энтеротоксины присуща многим эшерихиям, вызывающим коли-энтериты и дизентериеподобные заболевания, а также шигеллам Флекснера, Зонне, сальмонеллам и др.

Патогенез. Среди семейства энтеробактерий имеются патогенные, условно-патогенные и сапрофитические виды. Патогенные представители вызывают у людей, а также у животных различные по патогенезу и клиническому проявлению инфекционные заболевания, классифицируемые как эшерихиозы, шигеллезы, сальмонеллезы и др. Наиболее распространены в настоящее время заболевания людей, вызванные бактериями, принадлежащими к родам Escherichia, Salmonella, Shigella, Klebsiella (Enterobacter, K. pneumoniae), Proteus (P. vulgaris

и др.), Yersinia (Y. enterocolitica, Y. pseudotuberculosis). При этом некоторые виды и биовары эшерихий, сальмонелл, клебсиелл, протеев и иерсиний вызывают внутрибольничные инфекции, особенно среди детей младшего возраста.

Экология и эпидемиология. Средой обитания для значительного большинства энтеробактерий является кишечный тракт позвоночных животных и человека. Представители некоторых видов рода Klebsiella в кишечнике не обнаруживаются. Однако по многим другим признакам они соответствуют характеристике данного семейства. В организме человека многие энтеробактерии содержатся в составе микробных биоценозов тонкой и толстой кишки. Патогенные виды встречаются только у больных и бактерионосителей. С испражнениями людей и животных энтеробактерии попадают в окружающую среду. В ней они могут сохраняться в течение самых различных сроков в зависимости от вида и условий. Некоторые из них (E. coli, Citrobacter, Enterobacter) используются в санитарной микробиологии в качестве показателей фекального загрязнения окружающей среды. Предполагают, что родоначальником семейства Escherichieae является кишечная палочка E. coli, из которой в процессе эволюции сформировались другие представители данного семейства.

20.2.1.1. Эшерихии

Род E.coli подразделен на многочисленные биовары и серовары, различающиеся некоторыми биохимическими, антигенными и патогенными свойствами. Кишечную палочку впервые выделил из фекалий человека в 1885 г. Т. Эшерих. В дальнейшем было установлено, что подобные бактерии широко распространены в природе. Они встречаются в кишечнике почти всех видов млекопитающих, птиц, рыб и рептилий, а также в воде, почве и других объектах окружающей среды. Вид E. coli включает условно-патогенные штаммы, являющиеся постоянными обитателями кишечника человека.

Морфология и физиология. По своим морфологическим и тинкториальным свойствам E. coli напоминает другие энтеробактерии. Среди кишечных палочек встречаются подвижные и неподвижные варианты. Некоторые штаммы имеют выраженную капсулу или микрокапсулу и формируют на плотной среде S- и R-формы колоний. E. coli — факультативный анаэроб, хорошо растет на обычных питательных средах при слабощелочной реакции среды и оптимальной температуре 37°С. Рост и размножение бактерий возможны при довольно значительных колебаниях pH среды и температурного режима. Кишечная палочка обладает наиболее высокой ферментативной активностью. Она утилизирует ацетат в качестве единственного источника углерода, восстанавливает нитраты в нитриты. Ферментирует глюкозу и другие углеводы. Большинство штаммов ферментирует

лактозу с образованием кислоты и газа. Однако встречаются варианты, медленно сбраживающие лактозу или вовсе не обладающие этой способностью. Сравнительная характеристика E. coli с другими родами энтеробактерий дана в табл. 20.3.

Антигены. Кишечная палочка имеет сложную антигенную структуру. Она содержит соматический, или О-антиген, поверхностный (капсульный) К-антиген и жгутиковый Н-антиген. О-антигены у бактерий рода Escherichia имеют сходную химическую структуру и связаны с ЛПС клеточной стенки. Н-антигены имеются только у жгутиковых форм бактерий и состоят из белка флагеллина. О-антигены являются основными антигенами, определяющими серологическую группу эшерихий. В настоящее время описано около 170 О-серогрупп E. coli. Большинство эшерихий, принадлежащих к разным О-серогруппам, связаны друг с другом перекрестными антигенными связями. Около 100 серогрупп имеют антигенные связи с шигеллами, сальмонеллами и другими энтеробактериями. К-антигены представлены тремя антигенами, обозначаемыми буквами А, В и L. Они отличаются друг от друга чувствительностью к нагреванию и химическим веществам. К-антигены обладают способностью маскировать О-антигены, которые можно выявить только после разрушения первых кипячением культуры. Эшерихии содержат около 97 разных К-антигенов, преимущественно В-типа. Н-антигены в отличие от О- и К-антигенов являются типоспецифическими. У эшерихий описано 50 разных Н-антигенов. Антигены эшерихий обозначают антигенными формулами, указывающими на серогруппу, например, E. coli O26 : K6O (B6), или серовар — E. coli O26 : K6O(B6) : H_2. Патогенность для людей связана с определенными серогруппами.

Патогенез. По патогенетическим и эпидемиологическим особенностям вызываемых E. coli заболеваний их можно подразделить на две группы:

1. Возбудители эндогенных инфекций — гнойно-воспалительных процессов различной локализации. К ним относятся пиелиты, циститы, холициститы и др., за исключением нагноения ран. Последние относятся к экзогенной инфекции, возникающей преимущественно в ассоциациях с другими бактериями (Staphylococcus, Proteus, Pseudomonas aeruginosa и др.). Все перечисленные инфекции нередко классифицируют как коли-бактериозы, вызываемые условно-патогенными бактериями. E. coli при выраженном иммунодефиците могут вызвать сепсис.

2. Возбудители острых кишечных инфекций (ОКЗ), которые представляют собой типичные экзогенные инфекции, называемые *эшерихиозами (диареи)*. Их вызывают энтеропатогенные эшерихии (ЭЭ) или энтеропатогенные кишечные палочки (ЭПКП) и подразделяют на четыре группы:

а) ЭПКП — возбудители коли-энтеритов, вызывающих сальмонеллоподобные инфекции; б) ЭТКП, вызывающие холероподобные инфекции; в) ЭИКП, вызывающие дизентериеподобные инфекции; г) ЭГКП, вызывающие геморрагический колит.

Представители упомянутых групп отличаются друг от друга по факторам патогенности, которые рассмотрены ниже.

Энтеропатогенные кишечные палочки (ЭПКП)

Вызывают колиэнтериты преимущественно у маленьких детей. Адгезия к энтероцитам происходит за счет белков наружной мембраны. Способность к инвазии и пенетрации в энтероциты ограничена. Они активно захватываются энтероцитами и их колонизируют. Наряду с этим они фагоцитируются в Пейеровых бляшках и освобождаются из лимфоцитов после их разрушения, которое происходит при участии гемолизина — фермента, продуцируемого данными эшерихиями. После разрушения бактерий особождается эндотоксин — ЛПС клеточной стенки, который вызывает системную воспалительную реакцию. Колиэнтерит вызывают ЭПКП преимущественно сероваров 026 : В6, 055 : В5 и 0111 : В4.

Энтеротоксигенные кишечные палочки (ЭТКП)

Вызывают холероподобную инфекцию у детей и взрослых. Это связано с белковыми энтеротоксинами, напоминающими по механизму действия холероген. ЭТКП адгезируют на энтероцитах преимущественно за счет свих пилей, причем адгезия не сопровождается воспалительной реакцией. После колонизации энтероцитов возбудитель локализуется на поверхности клеток и продуцирует два типа энтеротоксина — термолабильный и термостабильный, которые нарушают водно-солевой обмен. Первый отличается от второго тем, что он активирует аденилатциклазу, что приводит к накоплению цАМФ (циклический аденозинмонофосфат), нарушению секреции и развитию острой диареи. Термолабильный токсин обладает иммуногенными свойствами. Термостабильный энтеротоксин действует через систему гуанилатциклазы и лишен иммуногенных свойств. ЭТКП принадлежат к сероварам 025,0124, 0144 и др.

Энтероинвазивные кишечные палочки (ЭИКП)

Вызывают заболевание типа дизентерии у детей и взрослых. Адгезия на энтероцитах происходит за счет капсулоподобной оболочки. Аналогично шигеллам они проникают (пенетрируют) и размножаются в энтероцитах, распространяясь между соседними клетками. Это приводит энтероцитов к гибели и образованию язв. ЭИКП вырабатывают шигеллоподобный токсин. Они относятся к сероварам 025, 0124, 0144 и др.

Энтерогеморрагические кишечные палочки (ЭГКП)

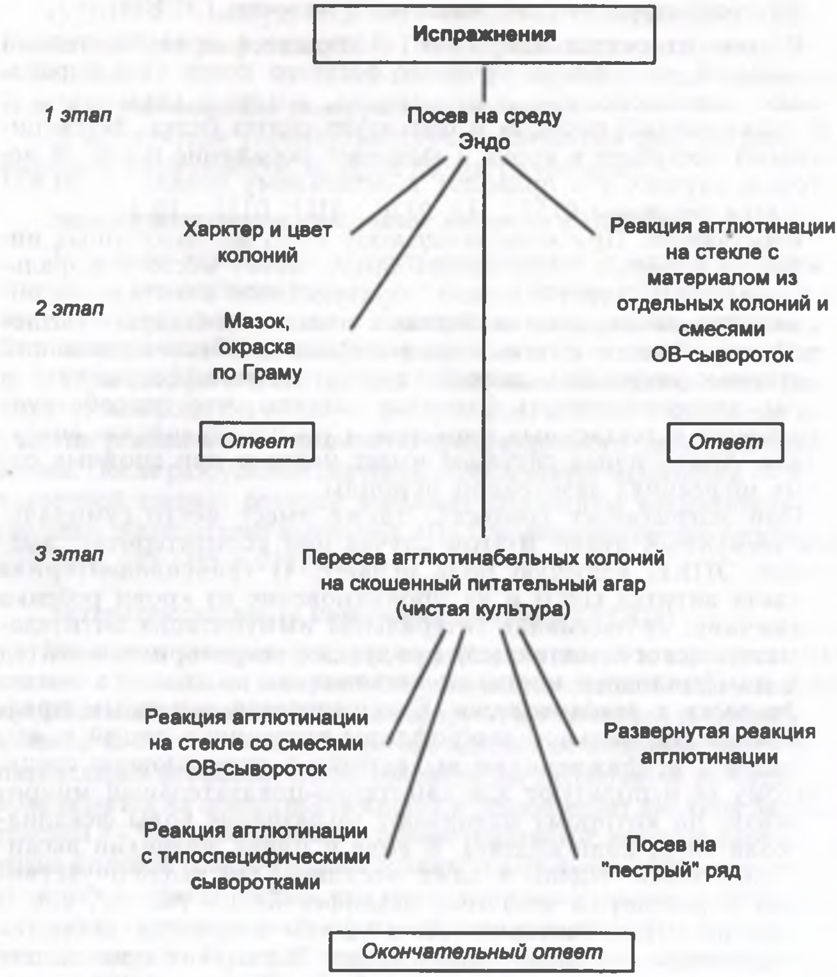
К ним относятся эшерихии, являющиеся представителями нормальной микрофлоры крупного рогатого скота. Они вырабатывают шигеллоподобный цитотоксин, который связывается с 60S субъединицей рибосом и блокирует синтез белка. Затем цитотоксин поступает в кровь и вызывает поражение почек. В некоторых случаях это приводит к летальному исходу. К ЭГКП относятся серовары 0157 : Н5, 0126 : Н11, 0111 : Н(-).

Иммунитет. При *колибактериозах* в случае эндогенных инфекций, о которых упоминалось выше, имеет место гуморальный иммунный ответ. Однако образующиеся антитела не обладают протективными свойствами и не способствуют выздоровлению. Вместе с тем иммунодефицит, обуславливающий эндогенные инфекции, способствует угнетению фагоцитоза и других неспецифических факторов защиты, что способствует нарушению естественных барьеров и распространению возбудителя. Аналогичная ситуация имеет место и при гнойных раневых инфекциях экзогенной природы.

При *эшерихиозах (диареях)* также имеет место гуморальный иммунный ответ. В этом случае при колиэнтеритах, вызванных ЭПКП ведущую роль играют: 1) трансплацентарная передача антител (IgG) и их проникновение из крови ребенка в кишечник; 2) пассивная энтеральная иммунизация антителами материнского молока; 3) продукция секреторных антител SIgA лимфоидными клетками кишечника.

Экология и эпидемиология. E.coli является основным представителем нормальной микрофлоры кишечника людей и животных и с испражнениями выделяется в окружающую среду. Поэтому ее используют как санитарно-показательный микроорганизм, по которому оценивают загрязнение воды фекалиями (коли-титр, коли-индекс). В воде и почве эшерихии выживают несколько недель и даже месяцев. Они высокочувствительны к растворам обычных дезинфектантов так же, как и все другие энтеробактерии. Источником инфекции являются больные люди или бактерионосители. Заражение происходит с инфицированной пищей или водой. До 70% всех ОКЗ раннего детского возраста (до двух лет) связано с ЭПКП.

Лабораторная диагностика. При кишечной коли-инфекции, а также при перитоните, септических и других состояниях только на основании бактериологического исследования можно поставить окончательный диагноз заболевания. Идентификацию выделенной культуры проводят по морфологическим и биохимическим признакам и определению серовара возбудителя (схема 20.6). Выделение чистой культуры сопряжено с определенными трудностями. Они связаны с наличием в исследуемом материале (фекалии) банальных эшерихий, представителей нормальной микрофлоры кишеника. Эти бактерии вместе с энтеропатогенными штаммами образуют однотипные коло-



С х е м а 20.6. Микробиологические исследования при коли-энтеритах и дизентериеподобных заболеваниях (эшерихиозах)

нии на дифференциально-диагностических средах. Идентификация выделенных эшерихий может быть произведена только на основании определения их принадлежности к определенной серогруппе, в реакциях агглютинации с диагностическими групповыми и типоспецифическими сыворотками.

Профилактика и лечение. Специфический профилактики нет. Важное значение имеет выявление больных и носителей в детских яслях, родильных домах, молочных кухнях и других детских учреж-

дениях, их изоляция и лечение. Для лечения больных детей раннего возраста используют бифидобактерии, лактобактерин — препараты, содержащие молочно-кислые бактерии, являющиеся антагонистами E. coli. Из антибиотиков используют все препараты, действующие на грамотрицательные бактерии хлорамфеникол, пенициллин и цефалоспорины последних поколений, а также фторхинолон.

20.2.1.2. Шигеллы

Бактерии рода Shigella являются возбудителями бактериальной дизентерии, или шигеллеза. Дизентерия — полиэтиологическое заболевание. Его вызывают различные виды бактерий, названных шигеллами в честь А.Шига. В настоящее время они отнесены к роду Schigella, который подразделяется на четыре вида. Три из них — S. dysenteriae, S. flexneri и S. boydii — разделены на серовары, а S. flexneri — еще на подсеровары (табл. 20.4).

Таблица 20.4

Классификация шигелл по антигенной структуре

Группа	Серовар
A — Shigella dysenteriae	1–10
B — Shigella flexneri	1 1a 1b 2 2a 2b 3 3a 3b 3c 4 4a 4b 5 x 6 e x y
C — Shigella boydii	1–15
D — Shigella sonnei	–

Морфология и физиология. По своим морфологическим свойствам шигеллы мало отличаются от эшерихий и сальмонелл (рис. 20.11, 20.12). Однако они лишены жгутиков и поэтому являются неподвижными бактериями. Многие штаммы шигелл имеют пили. Различные виды шигелл идентичны по своим морфологическим свойствам. Возбудители дизентерии хемоорганотрофы, нетребовательны к питательным средам. На плотных средах при выделении из организма больного образуются, как правило, S-формы колоний. Шигеллы вида Schigella sonnei образуют два типа колоний — S-(I фаза) и R-формы (II фаза). Бактерии I фазы при пересевах образуют оба типа колоний. Шигеллы менее ферментативно активны, чем другие энтеробактерии:

Рис. 20.11. S.flexneri. ЭМ

Таблица 20.5

Биохимические признаки рода Shigella

Группа	Ферментация					Образование индола	Декарбоксилирование орнитина
	Глюкозы с газообразованием	Лактозы	Маннита	Дульцита	Ксилозы		
S.dysenteriae	–	–	–	–	–	в	–
S.flexneri	–	–	+	–	–	в	–
S.boydii	–	–	+	–	в	в	–
S.sonnei	–	(+)	+	(+)	в	–	+

Обозначения: «+» — положительная реакция;
«–» — отрицательная реакция;
«(+)» — поздняя реакция;
«в» — вариабельная реакция

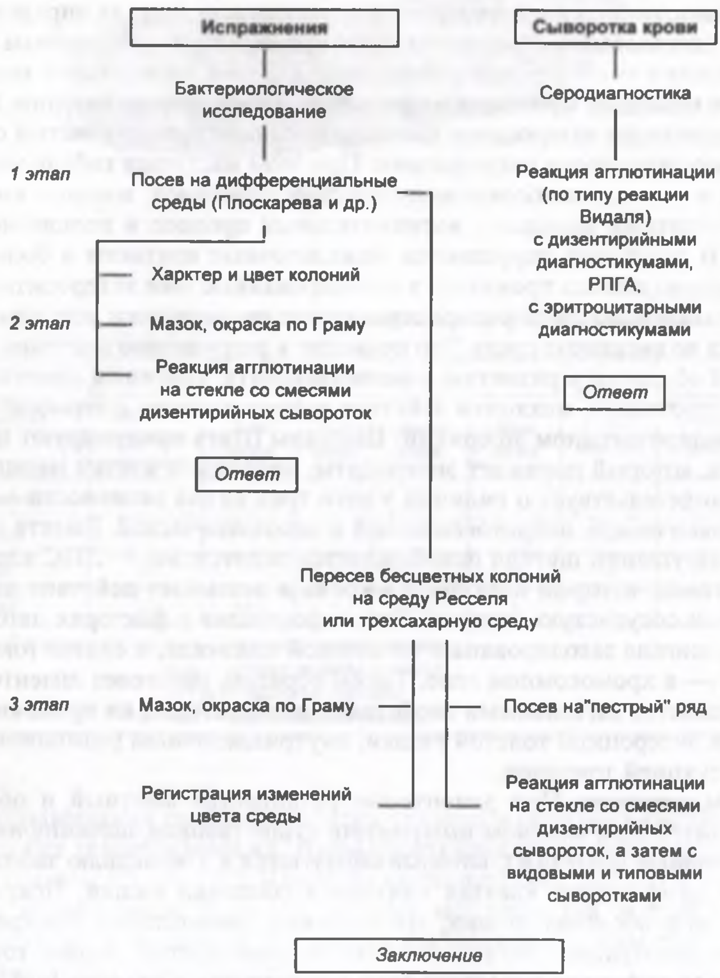
при сбраживании глюкозы и других углеводов образуют кислые продукты без газообразования. Дифференциальные признаки рода шигелл указаны в табл. 20.5. Шигеллы не расщепляют лактозу и сахарозу, за исключением S. sonnei, которые медленно (на вторые сутки) расщепляют эти сахара. Различить по биохимическим признакам первые три вида невозможно.

Антигены. Шигеллы, так же как эшерихии и сальмонеллы, имеют сложную антигенную структуру. В составе их клеточных стенок есть О-, а у некоторых видов (шигеллы Флекснера) и К-антигены. По химической структуре они аналогичны антигенам эшерихий. Отличия заключаются главным образом в структуре концевых звеньев ЛПС, которые обусловливают иммунохимическую специфичность, что дает возможность дифференцировать их от других энтеробактерий и между собой. Кроме того, шигеллы имеют перекрестные антигенные связи со многими серогруппами энтеропатогенных эшерихий, вызывающих главным образом дизентериеподобные заболевания, и с другими энтеробактериями.

Патогенность и патогенез. Вирулентность шигелл определяется их адгезивными свойствами. Они прилипают к энтероцитам толстой кишки за счет своей микрокапсулы. Затем проникают в энтероциты с помощью муциназы — фермента, разрушающего муцин. После колонизации энтероцитов шигеллы попадают в подслизистый слой, где фагоцитируются макрофагами. При этом наступает гибель макрофагов и выделяется большое количество цитокинов, которые вместе с лейкоцитами вызывают воспалительный процесс в подслизистом слое. В результате нарушаются межклеточные контакты и большое количество шигелл проникает в активированные ими энтероциты, где они размножаются и распространяются по соседним клеткам без выхода во внешнюю среду. Это приводит к разрушению эпителия слизистой оболочки и развитию язвенного колита. Шигеллы продуцируют энтеротоксин, механизм действия которого сходен с термолабильным энтеротоксином эшерихий. Шигеллы Шига продуцируют цитотоксин, который поражает энтероциты, нейроны и клетки миокарда. Это свидетельствует о наличии у него трех видов активности — энтеротоксической, нейротоксической и цитотоксической. Вместе с тем при разрушении шигелл освобождается эндотоксин — ЛПС клеточной стенки, который поступает в кровь и оказывает действие на нервную и сосудистую системы. Вся информация о факторах патогенности шигелл закодирована в гигантской плазмиде, а синтез токсина Шига — в хромосомном гене. Таким образом, патогенез дизентерии определяется адгезивными свойствами возбудителей, их проникновением в энтероциты толстой кишки, внутриклеточным размножением и продукцией токсинов.

Иммунитет. При дизентерии развивается местный и общий иммунитет. При местном иммунитете существенное значение имеют секреторные IgA(SIgA), которые образуются в 1-ю неделю заболевания в лимфоидных клетках слизистой оболочки кишки. Покрывая слизистую оболочку кишки, эти антитела препятствуют прикреплению и пенетрации шигелл в эпителиальные клетки. Кроме того, в процессе инфекции нарастает титр сывороточных антител IgM, IgA, IgG, который достигает максимума на 2-й неделе заболевания. Наибольшее количество IgM обнаруживается в 1-ю неделю болезни. Наличие специфических сывороточных антител не является показателем напряженности местного иммунитета.

Экология и эпидемиология. Средой обитания шигелл является толстая кишка человека, в энтероцитах которой они размножаются. Источником инфекции являются больные, люди и бактерионосители. Заражение происходит при приеме инфицированной пищи или воды. Таким образом, основной путь передачи инфекции — алиментарный. Однако описаны случаи контактно-бытовой передачи. Резистентность разных видов шигелл к факторам окружающей



С х е м а 20.7. Микробиологические исследования при дизентериях

среды не одинакова — наиболее чувствительны S. dysenteriae, наименее чувствительны S. sonnei, особенно в R-форме. В фекалиях сохраняются не более 6–10 ч.

Лабораторная диагностика. Выделяют чистую культуру возбудителя путем посева фекалий больного на дифференциально-диагностическую питательную среду (среда Плоскирева, Левина и др.) с последующей ее идентификацией на средах пестрого ряда и по антигенным свойствам в реакции агглютинации для определения вида и серовара. Процент положительных результатов довольно низкий, особенно при хронической дизентерии (схема 20.7).

Специфическая профилактика и лечение. Получение различных вакцин (гретые, формалинизированные, химические) не решило проблему специфической профилактики дизентерии, поскольку все они обладали низкой эффективностью. Для лечения применяют фторхинолоны и реже — антибиотики.

20.2.1.3. Сальмонеллы

Род Salmonella получил свое название по имени американского микробиолога Сальмона. В настоящее время он включает два вида: S. salamae и S. choleraesuis, два одноименных подвида, из которых первый включает около 2000 сероваров, а второй — четыре серовара: S. typhi, S. paratyphy A, S. gallinarum, S. pullorum.

Морфология и физиология. Сальмонеллы представляют собой мелкие палочки, окруженные микрокапсулой, подвижны за счет перитрихиально расположенных жгутиков (рис.20.12.). Отличаются от E. coli меньшей ферментативной активностью, являются лактозоотрицательными бактериями (диагностический признак), некоторые серовары ферментируют сахара только до кислоты (S. typhi), что также является диагностическим признаком. Протеолитические свойства менее выражены, чем у E. coli (табл. 20.6).

Рис. 20.12. S. typhi. ЭМ.
Видны жгутики

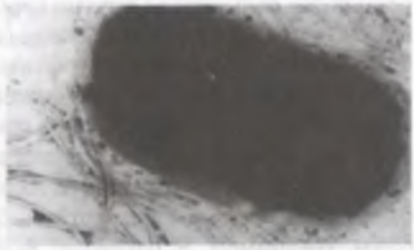


Таблица 20.6

Биохимические признаки некоторых сероваров сальмонелл

Род сальмонелл	Ферментация					Образование	
	глюкозы	лактозы	мальтозы	арабинозы	маннита	индола	сероводорода
S. typhi	К	–	К	К	К	–	+
S. paratyphi A	КГ	–	КГ	КГ	КГ	–	–
S. schottmuelleri	КГ	–	КГ	КГ	КГ	–	В
S. typhimurium	КГ	–	КГ	КГ	КГ	–	+

Обозначения: «К» — образование кислоты;
«КГ» — образование кислоты и газа;
«+» — обнаружение признака;
«в» — вариабельный признак

Антигены. Сальмонеллы, так же как и эшерихии, имеют сложную антигенную структуру. Они содержат О-антигены (соматические) и Н-антигены (жгутиковые). Некоторые сальмонеллы имеют К-антиген. По своей химической структуре О-антигены сальмонелл аналогичны тем же антигенам эшерихий. Они отличаются друг от друга только структурой концевых звеньев полисахаридного компонента ЛПС, определяющим иммунохимическую специфичность грамотрицательных бактерий. Н-антигены могут существовать в двух разных фазах: специфической 1-й фазе и менее специфической, или групповой, 2-й фазе (табл. 20.7). Анализ антигенного строения является обязательным элементом микробиологической диагностики сальмонеллезов. В основу схемы Ф. Кауфмана и П. Уайта положена общность О-антигенов сальмонелл, объединенных в серологические группы, обозначаемые прописными буквами латинского алфавита: A, B, C, D, E, F и т.д. Всего описано около 65 серогрупп, в которых О-антигены обозначены цифрами. В сокращенном виде эта схема представлена в табл. 20.7. В каждой серогруппе сальмонелл представлены серовары с одним или несколькими идентичными О-антигенами. Например, в серогруппе D серовар S. typhi с О-антигеном 9, 12, из которых специфичным для серогруппы является антиген 09. Дифференциация сальмонелл внутри серовара проводится по антигенной специфичности Н-антигенов, существующих в двух фазах. 1-ю специфическую фазу обозначают строчными буквами латинского алфавита a, в, c, d, e и т.д. 2-ю неспецифическую фазу — арабскими цифрами. Фазовые вариации сальмонелл происходят с высокой частотой. Большинство сероваров сальмонелл имеют наименования по названию места открытия (S. moskov, S. rostok) или животному, из которого они были выделены (S. typhimurium, S. choleraesuis), либо другим критериям. Например, S. paratyphi A 01, 2, 12, H1a, S. typhi 09, 12 (Vi), H1d.

20.2.1.3.1. Сальмонеллы — возбудители брюшного тифа и паратифов

Возбудитель брюшного тифа был впервые обнаружен К. Эбертом в 1887 г.

Патогенность и патогенез. К факторам вирулентности сальмонеллы брюшного тифа относят Vi-антиген, представляющий собой капсульный полисахарид, защищающий их от фагоцитоза и комплемента. Vi-антиген отсутствует у подавляющего большинства других сальмонелл. За счет микрокапсулы S. typhi и S. paratyphi прилипают к энтероцитам тонкой кишки. После адгезии имеет место частичная колонизация слизистой. При этом большая часть сальмонелл попадает в пейеровы бляшки и фагоцитируется макрофагами, в которых активно размножаются. Из лимфоузлов сальмонеллы попадают в

Таблица 20.7

Классификация сальмонелл по антигенной структуре

Серогруппа, вид или серовар	О-антиген	Н-антиген	
		фаза 1	фаза 2
Серогруппа А			
S. paratyphi A	1, 2, 12	a	(1, 5)
Серогруппа В			
S. schottmuelleri	1, 4, (5), 12	b	1, 2
S. abony	1, 4, (5), 12	b	e, n, x
S. typhimurium	1, 4, (5), 12	i	1, 2
S. derby	1, 4, (5), 12	f, g	(1, 2)
S. wien	1, 4, 12, 27	b	1, w
S. haifa	1, 4, (5), 12	z	1, 2
S. heidelberg	1, 4, (5), 12	r	1, 2
Серогруппа С			
S. hirschfeldii (S.paratyphi C)	6, 7, (Vi)	c	1, 5
S. choleraesuis	6, 7	(c)	1, 5
S. montevideo	6, 7	m, s, (p)	–
S. leopoldville	6, 7	b	z
S. bonn	6, 7	l, v	e, n, x
Серогруппа D			
S. typhi	9, 12	d	–
S. enteritidis	1, 9, 12	g, m	(1, 7)
S. dublin	1, 9, 12	g, p	–
S. rostock	1, 9, 12	g, p, u	–
S. moscow	9, 12	b, g	–
S. gallinarum	1, 9, 12	s, q	–
Серогруппа Е			
S. london	3, 10	l, v	1, 6
S. anatum	3, 10	e, h	1, 6
S. amsterdam	3, 10	g, m, s	–
S. zanzibar	3, 10	k	1, 5

общий ток лимфы, а затем в кровь, вызывая бактериемию. С кровью они проникают в костный мозг и селезенку, колонизируя отдельные участки этих органов и заносятся в желчный пузырь. Там они интенсивно размножаются, поскольку желчь является для них элективной питательной средой. С желчью сальмонеллы проникают в двенадцатиперстную, а затем вторично в тонкую кишку и пейеровы бляшки, где присутствуют Т-эффекторы ГЗТ, выделяющие цитокины. Это

приводит, в конечном итоге, к иммунному воспалению, в результате которого может произойти разрыв стенки кишки и возникновение перитонита. При разрушении сальмонелл освобождается эндотоксин, после чего начинается интоксикация организма.

Иммунитет. При брюшном тифе в результате гуморального иммунного ответа в сыворотке крови появляются различные антитела (агглютинины, связывающие комплемент и др.), которые обеспечивают напряженный иммунитет. Кроме того, секреторные иммуноглобулины SIgA, покрывая слизистую тонкой кишки обеспечивают местный иммунитет. Полагают, что при брюшном тифе имеет место и клеточный иммунный ответ в результате образования Т-эффекторов ГЗТ в пейеровых бляшках.

Экология и эпидемиология. Брюшной тиф и паратифы являются антропонозами, в отличие от других сальмонеллезов, которые принадлежат к зооантропонозным инфекциям. Источником инфекции являются больные люди и, особенно, бактерионосители, которые в течение многих лет могут представлять опасность для окружающих. Передача инфекции происходит исключительно оральным путем. Сальмонеллы относительно устойчивы к факторам окружающей среды. Они длительно сохраняются (30–90 дней) в воде открытых водоемов, сточных водах, почве, куда попадают с испражнениями. Растворы дезинфектантов (хлорная известь и др.) оказывают на них губительное действие в течение 2–3 мин.

Лабораторная диагностика. В основе лабораторной диагностики тифопаратифозных заболеваний лежат патогенетические особенности этих инфекций, связанные с локализацией возбудителя в лимфоидной ткани внутренних органов, крови, желчи и выделением его с испражнениями и мочой. В первые дни заболевания выделяют гемокультуру путем посева крови на элективные среды. На 2-й неделе выделяют копро- или уринокультуру из фекалий или мочи соответственно на обогатительных и дифференциально-диагностических средах. Выделенную культуру идентифицируют по биохимическим и антигенным свойствам, а культуру S. typhi фаготипируют с помощью набора Vi-фагов. Установление фаговара необходимо для эпидемиологического анализа вспышек брюшного тифа с целью выявления источника инфекции и путей ее передачи. Начиная со 2-й недели, проводят серодиагностику путем постановки реакции агглютинации Видаля с О- и Н-диагностикумами. Основное диагностическое значение имеет реакция с О-диагностикумом, так как Н-антитела появляются позже О-антител и сохраняются после болезни или прививки более длительное время. Поэтому положительная реакция Видаля только с Н-диагностикумом указывает либо на ранее перенесенное заболевание (анамнестическая реакция), либо появляется в результате вакцинации (прививочная реакция). Диагностический титр с О-антигеном

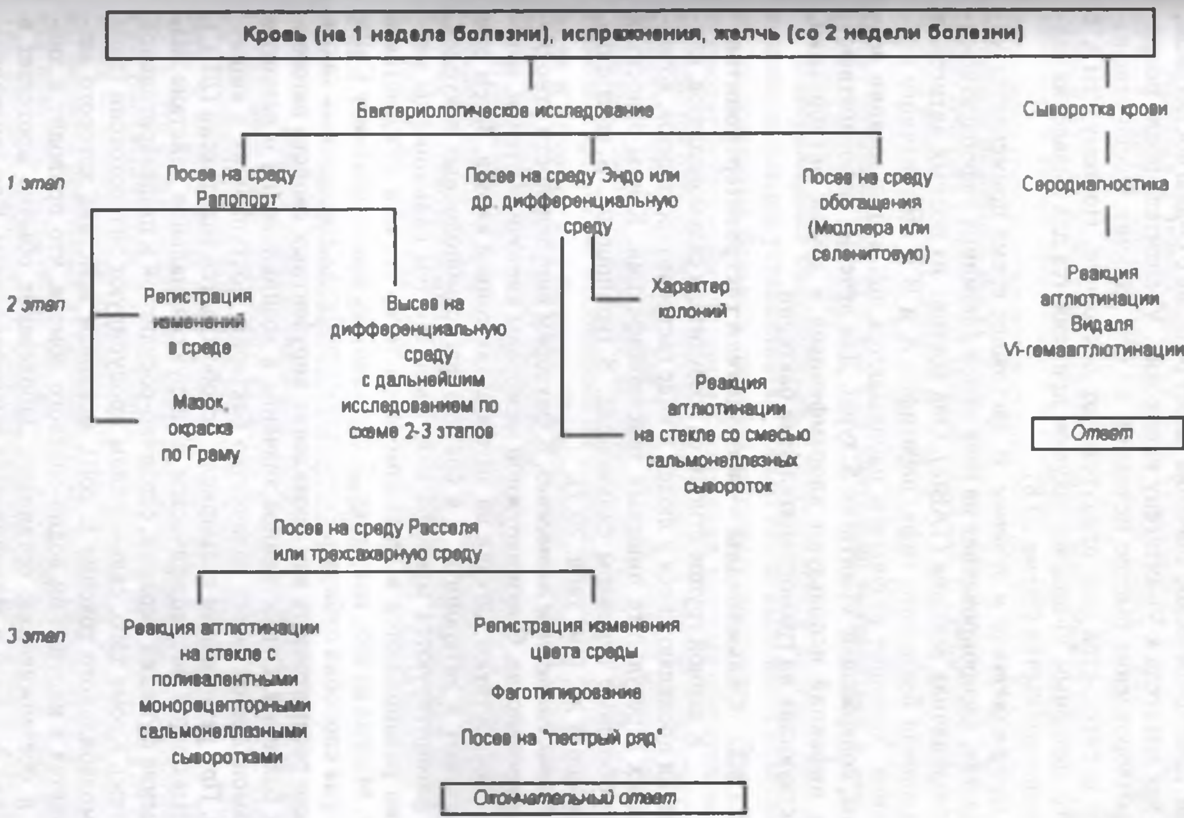


Схема 20.8. Микробиологические исследования при брюшном тифе и паратифе

равен 1:200. Более важное значение для диагностики имеет нарастание титра в течение болезни. Чувствительна и специфична реакция непрямой гемагглютинации с эритроцитарными О- и Vi-диагностикумами. Диагностическое значение имеет реакция с О-диагностикумом, так как антитела к Vi-антигену невысокие. Vi-антитела после полного выздоровления быстро исчезают, но при наличии брюшнотифизного носительства они присутствуют постоянно. Поэтому РНГА с эритроцитарным Vi-диагностикумом применяется для выявления бактерионосительства (схема 20.8).

Профилактика и лечение. В настоящее время применяется химическая, адсорбированная на геле окиси алюминия тифопаратифозно-столбнячная вакцина (TABte). Она состоит из полных антигенов сальмонелл брюшного тифа, паратифов А и В и столбнячного анатоксина. Хорошие результаты наблюдаются при использовании вакцины, содержащей Vi-антиген S. typhi. Для лечения тифопаратифозных инфекций используют хлорамфеникол и другие антибиотики, действующие на грамотрицательные бактерии.

20.2.1.3.2. Сальмонеллы — возбудители гастроэнтероколитов

К данной группе относятся возбудители сальмонеллезов, клинически проявляющиеся у людей в виде гастроэнтероколитов, возникающих в результате пищевых токсикоинфекций. К ним относятся разнообразные серовары сальмонелл: S. typhimurium, S. enterididis, S. anatum и др. (см. табл. 20.7).

Патогенность и патогенез. К факторам вирулентности относятся микрокапсула, белки наружной мембраны клеточной стенки, которые способствуют адгезии на энтероцитах тонкой кишки. Затем они проникают в энтероциты и в составе фагосомоподобных вакуолей, где фагоцитируются макрофагами. Вместе с тем сальмонеллы медленно размножаются в организме из-за того, что они нуждаются в F++. Многие из них, например, S. typhimurium, имеют плазмиду ColB, которая способна отбирать Fe++ от гемоглобина. Этот признак также можно рассматривать как проявление вирулентных свойств патогенных бактерий. Существенное значение в возникновении и развитии сальмонеллезов имеет количество бактерий, поступивших в кишечник. При разрушении сальмонелл освобождается эндотоксин (ЛПС), оказывающий неспецифическое полифункциональное действие (нарушение функций нервной, сердечно-сосудистой и пищеварительной систем). Кроме того, сальмонеллы продуцируют энтеротоксин (типа термолабильного токсина E. coli), механизм действия которого заключается в нарушении водно-солевого обмена, что приводит к диарее и обезвоживанию организма. Заболевание обычно протекает в течение 3–5 дней и заканчивается выздоровлением. При генерализации процесса болезнь затягивается.

Иммунитет. При сальмонеллезах имеет место гуморальный и частично клеточный иммунный ответ, которые не приводят к развитию напряженного иммунитета, в отличие от брюшного тифа и паратифов.

Экология и эпидемиология. Как указывалось выше, сальмонеллезы являются зоонозно-антропонозными инфекциями. Заражение происходит при употреблении в пищу мяса крупного рогатого скота, свиней, кур, а также яиц. Инфицирование мяса может быть прижизненным, а также происходить в процессе убоя, разделки туш, при хранении, транспортировке и кулинарной обработке. Кроме мяса источником инфекции могут быть кондитерские изделия, при изготовлении которых используют зараженные яйца. К сальмонеллезам одинаково восприимчивы взрослые и дети, у которых заболевание протекает тяжелее. В отличие от многих других бактерий сальмонеллы могут размножаться при 4–6°C и длительно сохраняться в замороженных мясных изделиях.

Лабораторная диагностика. Окончательный диагноз пищевой токсикоинфекции устанавливают только после выделения возбудителя из организма больных людей и пищевых продуктов. Для этого проводят бактериологические исследования, которые обязательно завершаются определением серовара выделенной чистой культуры сальмонеллы, что необходимо для выявления источника инфекции. При пищевых токсикоинфекциях, вызванных другими бактериями (E. coli, Proteus и др.), также необходима их идентификация с установлением вида и серовара или биовара. Определение серовара проводят с помощью монорецепторных сывороток.

Профилактика и лечение. Основное значение в профилактике сальмонеллезов придается проведению ветеринарно-санитарных и других противоэпидемических мероприятий. Антибиотики применяют только для лечения генерализованных форм сальмонеллеза.

20.2.1.3.3. Сальмонеллы — возбудители внутрибольничных инфекций

Общая характеристика. Возбудителем внутрибольничного сальмонеллеза чаще всего является S. typhimurium. Однако нередки заболевания, вызываемые другими сероварами S. derby, S. heidelberg, S. wien, S. haifa и др., которые относятся к группе B (см. табл. 20.7). Эти сальмонеллы по своим морфологическим, физиологическим, биохимическим и антигенным признакам не отличаются от бактерий — возбудителей пищевых токсикоинфекций. Идентифицированы биовары некоторых из перечисленных выше сальмонелл, которые, как правило, выделяются только при внутрибольничной инфекции. Так, среди S. typhimurium идентифицировано три биовара, одинаковых по своей антигенной структуре, но отличающихся друг от друга

по патогенности для белых мышей при энтеральном заражении и по чувствительности к антибиотикам. Как правило, сальмонеллы, выделяемые при внутрибольничной инфекции, резистентны к 15–20 антибиотикам. Это связано с наличием у них конъюгативных R-плазмид, несущих множественную устойчивость к антибиотикам.

Патогенность и патогенез. Распространение внутрибольничных сальмонеллезов происходит тремя путями: контактно-бытовым, воздушно-пылевым и пищевым. Наиболее распространен контактно-бытовой путь передачи инфекции. Проявления болезни разнообразны и варьируют от бессимптомного бактерионосительства и легчайших субклинических форм до выраженных интестинальных расстройств с тяжелой интоксикацией, бактериемией, иногда с генерализацией процесса и развитием осложнений. Внутрибольничные сальмонеллезы у детей раннего возраста протекают более тяжело и длительно. Они сопровождаются значительной интоксикацией и более глубокими поражениями желудочно-кишечного тракта, а также бактериемией и развитием токсико-септических и даже септико-дистрофических состояний. У детей старше 3 лет часто отмечаются легко протекающие кишечные формы и бессимптомное бактерионосительство. Сальмонеллезная интоксикация нарушает функции гипоталамуса и обменные процессы. При этом дети грудного возраста теряют большое количество солей и воды, что приводит к возникновению токсикоза и обезвоживанию организма. У детей старше 1 года может наступить синдром нейротоксикоза. Особенно опасно для детей раннего возраста присоединение сальмонеллезов к стафилококковой инфекции, респираторной вирусной инфекции, пневмонии, эшерихиозу. Часто у таких больных развивается сепсис смешанной этиологии или менингит.

Лабораторная диагностика. Основное значение имеет выделение чистой культуры и определение ее серовара при инфекции S. typhimurium.

Профилактика. С целью специфической профилактики используют поливалентный сальмонеллезный фаг. Его вводят детям в стационарах, контактировавшим с больными сальмонеллезами и носителями. Получают фаг также матери, находящиеся в тесном контакте с больными детьми.

20.2.1.4. Клебсиеллы

Название дано в честь Э. Клебса. К роду Klebsiella относятся два вида: Klebsiella pneumoniae и Enterobacter. Первый вид подразделен на два подвида: K. ozenae, K. rinoscleromatis.

Морфология и физиология. Представители вида Klebsiella pneumoniae — короткие, толстые, неподвижные грамотрицательные палочки, образующие в отличие от других энтеробактерий выраженные полисахаридные капсулы (*см. рис. 20.13 на цв. вкладке*). Клебси-

Таблица 20.8

Видовые биохимические признаки рода Klebsiella

Вид клебсиелл	Ферментация			Образование		Утилизация цитрата	Реакция Фогеса-Проскауэра
	глюкозы с газообразованием	лактозы	дульцита	уреазы	лизиндекарбоксилазы		
K.pneumoniae	КГ	К	К	+	+	+	+
K.ozaenae	в	(К)	–	в	в	в	–
K.rhinoscleromatis	–	–	–	–	–	–	–

Обозначения: «КГ» — кислота и газ;
«К» — кислота;
«(К)» — медленное образование кислоты (через несколько суток);
«в» — вариабельные реакции

еллы, так же как другие энтеробактерии, нетребовательны к питательным средам (*см. рис. 20.14 на цв. вкладке*). Они ферментируют глюкозу с кислотой и газом и используют ее и цитрат в качестве единственного источника углерода, а аммиак — источника азота. Подвиды клебсиелл различают по биохимическим признакам (табл. 20.8). В отличие от вида Enterobacter, K. pneumoniae лишены жгутиков, не синтезируют орнитиндекарбоксилазу, ферментируют сорбит. Дифференциация разных видов клебсиелл проводится на основании их неодинаковой способности ферментировать углеводы, образовывать уреазу и лизиндекарбоксилазу, утилизировать цитрат и других признаков. Клебсиеллы образуют слизистые колонии.

Антигены. Клебсиеллы содержат О- и К-антигены. Всего известно около 11 О-антигенов и 70 К-антигенов. Последние представлены капсульными полисахаридами. Серологическая идентификация клебсиелл основана на их антигенных различиях. Наибольшее число О- и К-антигенов содержат K. pneumoniae. Некоторые О- и К-антигены клебсиелл родственны О-антигенам эшерихий и сальмонелл.

Патогенность и патогенез. Вирулентность клебсиелл пневмонии обусловлена их адгезией, связанной с капсульным полисахаридом, пилями и белком наружной мембраны, последующим размножением и колонизацией энтероцитов. Капсула также защищает бактерии от действия фагоцитирующих клеток. При разрушении бактериальных клеток освобождается эндотоксин (ЛПС). Кроме того, клебсиеллы пневмонии секретируют термостабильный энтеротоксин, усиливающий выпот жидкости в просвет тонкой кишки, что играет существенную роль в патогенезе ОКЗ, и мембранотоксин с гемолитической

активностью. Клебсиеллы являются возбудителями пневмонии, ОКЗ, риносклеромы, озены. Они также могут вызывать поражения мочеполовых органов, мозговых оболочек взрослых и детей, токсико-септические состояния и ОКЗ у новорожденных. Клебсиеллы могут вызывать внутрибольничные инфекции. Для пневмонии, вызванной K. pneumoniae, характерны образование множественных очагов в дольках легкого с последующим их слиянием и ослизнением пораженной ткани, содержащей большое количество клебсиелл. Возможно образование гнойных очагов в других органах и развитие сепсиса. При склероме, вызванной K. rhinoscleromatis, поражается слизистая оболочка носа (риносклерома), носоглотки, трахеи, бронхов. В тканях образуются гранулемы с последующими склеротическими изменениями. При озене, вызванной K. ozenae, поражается слизистая оболочка носа и придаточных полостей с последующей атрофией носовых раковин и выделением зловонного секрета.

Иммунитет. Клебсиеллы вызывают гуморальный и клеточный иммунный ответ. Однако образующиеся антитела не обладают протектиными свойствами. Развитие ГЗТ связано с внутриклеточной локализацией клебсиелл.

Экология и эпидемиология. Клебсиеллез является антропонозной инфекцией. Источник инфекции — больные и носители. Заражение происходит через респираторные пути. Клебсиеллы входят в состав кишечного биоценоза, обнаруживаются на коже и слизистых оболочках. Они устойчивы к факторам окружающей среды и сравнительно долго сохраняются в почве, воде, в помещениях. В молочных продуктах выживают и размножаются при хранении их в холодильниках. При нагревании погибают уже при температуре 65°C, чувствительны к растворам обычных дезинфектантов.

Лабораторная диагностика. Диагноз основывается на результатах микроскопии мазков из исследуемого материала (мокрота, слизь из носа и др.) и выделении чистой культуры возбудителя. Дифференцировка клебсиелл и их идентификация проводится по морфологическим, биохимическим и антигенным признакам. Серодиагностику проводят в РСК с сыворотками больных и О-антигеном клебсиелл.

Профилактика и лечение. Специфическая вакцинопрофилактика клебсиеллезов не разработана. Для лечения применяют антибиотики, из которых цефалоспорины третьего поколения являются наиболее эффективными.

20.2.1.5. Протеи

В род Proteus включены четыре вида, из которых два вида P. vulgaris и P. mirabilis наиболее часто вызывают у людей пищевые токсикоинфекции и гнойно-воспалительные процессы различной локализации.

Морфология и физиология. Бактерии рода Proteus представляют собой прямые грамотрицательные палочки. Могут встречаться кокковидные и нитевидные формы. Спор и капсул не образуют, имеют перитрихиально расположенные жгутики, пили и микрокапсулу (рис. 20.15). У большинства штаммов имеет место роение, приводящее к образованию концентрических зон или распространению в виде однородной пленки по влажной поверхности питательной среды. Они хорошо растут на основных питательных средах. Факультативные анаэробы, хемоорганотрофы, обладающие окислительным и бродильным типами метаболизма. Ферментируют немногие углеводы с образованием кислых продуктов. Глюкозу расщепляют с образованием кислоты и газа. Разные виды отличаются по ферментации углеводов, образованию индола, уреазы, сероводорода, орнитиндекарбоксилазы и другим признакам (табл. 20.9).

Рис. 20.15. Proteus vulgaris. ЭМ

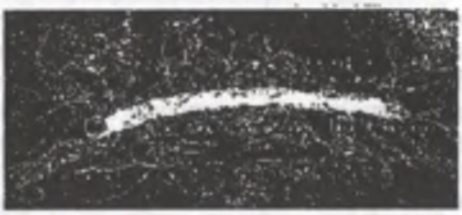


Таблица 20.9

Биохимические признаки бактерий рода Proteus

Вид	Ферментация					Образование				Разжижение желатины
	глюкозы	мальтозы	маннита	ксилозы	салицина	индола	H_2S	уреазы	орнитиндекарбоксилазы	
P.vulgaris	+	+	–	в	в	+	+	+	–	+
P.mirabilis	+	–	–	+	в	–	+	+	+	+
P.morganii	+	–	–	–	–	+	–	+	+	–
P.rettgeri	в	–	+	в	в	+	–	+	–	–
P.inconstans	в	–	–	–	–	+	–	-	–	–

Обозначения: «+» — положительная реакция;
«–» — отрицательная реакция;
«в» — вариабельная реакция

Антигены. Протеи обладают Н- и О-антигенами. Последний представлен ЛПС клеточной стенки. У некоторых видов идентифицировано несколько десятков сероваров. Некоторые серовары протея (ОХ-штаммы) имеют перекрестнореагирующие антигены с риккетсиями.

Патогенность и патогенез. Вирулентность протеев так же, как и других энтеробактерий связана с адгезией, обусловленной микрокапсулой, пилями, белком наружной мембраны клеточной стенки. Адгезия обеспечивает прямую колонизацию клеток хозяина и опосредованное действие. В последнем случае при взаимодействии пилей с клеточными рецепторами происходит активация цитокинов (ИЛ-6, ИЛ-8), которая сопровождается воспалительной реакцией. При попадании цитокинов в кровь происходит генерализация процесса. Протеи способны проникать внутрь клетки (пенетрация) и к инвазии. Из ферментов, наносящих ущерб организму, следует упомянуть уреазу, разрушающей мочевину, что приводит к сдвигу pH среды в очаге воспаления в щелочную сторону. При этом происходит разрушение эпителиальных клеток. Протеазы повреждают IgA и IgM. Токсические свойства протея связаны с эндотоксином — ЛПС, который освобождается после разрушения бактериальных клеток. Этим объясняется существенное значение количества бактерий, которые попадают алиментарным путем в желудочно-кишечный тракт при пищевых токсикоинфекциях. Протей вызывает гнойно-воспалительные заболевания прежде всего мочевыводящей системы (циститы и др.) и других органов. Последние могут быть следствием экзогенной инфекции, занесенной с катетером и другим урологическим инструментарием и эндоинфекции (аутоинфекция) при иммунодефицитных состояниях. P.vulgaris в ассоциациях с эшерихиями и синегнойной палочкой, стафилококками и стрептококками, а также с анаэробными клостридиями осложняет течение гнойной и анаэробной инфекции.

Экология и эпидемиология. P. vulgaris и P. mirabilis являются обитателями кишечника человека и животных и принадлежат к условно-патогенным бактериям. Они обнаруживаются в сточных водах и почве, куда попадают с испражнениями. В окружающей среде более устойчивы, чем E. coli, участвуют в процессах гниения, размножаясь в органических субстратах. Источником инфекции являются люди и животные. Заражение происходит контактным и оральным путями.

Лабораторная диагностика. Проводится путем бактериологического исследования. Выделенные культуры идентифицируют по культуральным и биохимическим признакам. Этиологическую роль устанавливают так же, как и в случае других условно-патогенных бактерий (*см. гл. 24*).

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика отсутствует. Для лечения применяют цефалоспорины 2–3 поколения, налидиксовую кислоту и другие препараты.

20.2.1.6. Иерсинии

Название дано в честь А. Иерсена. К роду Yersinia относятся несколько видов, из которых для человека патогенны Y. pestis, Y. enterocolitica, Y. pseudotuberculosis. Они представляют собой грамотрицательные неспорообразующие палочки. Их различают по биохимическим, антигенным и другим признакам (табл. 20.10.).

Таблица 20.10

Основные дифференциальные признаки бактерий рода Yersinia

Вид	Y.pestis	Y.pseudotuberculosis	Y.enterocolitica
Подвижность при:			
22°C	–	+	+
37°C	–	–	–
Гидролиз мочевины	–	+	+
Ферментация:			
глюкозы	+	+	+
эскулина	+	+	–
рамнозы	(+)	+	–
салицина	в	+	+
сахарозы	–	–	+
Образование:			
β-галактозидазы	+	+	+
орнитиндекарбоксилазы	–	–	+
индола	–	–	(+)
Утилизация цитрата			

Обозначения: «+» — положительная реакция;
«–» — отрицательная реакция;
«(+)» — замедленная реакция;
«в» — вариабельные реакции

20.2.1.6.1. Иерсинии чумы

Возбудитель чумы Y. pestis был открыт А. Иерсеном в 1894 г.

Морфология и физиология. Короткие с закругленными концами палочки, имеющие бочкообразную форму. Окрашиваются метиленовым синим биполярно. Спор не образуют, жгутиков не имеют. Образуют капсулу (*рис. 20.16 на цв. вкладке*, 20.17). Y. pestis являются гетеротрофными бактериями, нетребовательными к питательным средам. Растут в широком диапазоне температур (5°–37°C). На агаровых средах образует плоские с неровными краями колонии, напоминаю-

Рис. 20.17. Yersinia pestis. Деление клетки. ЭМ

щие кружевной платочек. На жидких средах образуются хлопья и рыхлый осадок. Ферментирует с образованием кислоты ряд сахаров (табл. 20.10.). Возбудитель чумы продуцирует гиалуронидазу, фибринолизин, коагулазу, протеинкиназу.

Антигены. Y. pestis имеет несколько антигенов. Антиген F1 представляет собой основной компонент поверхностной структуры бактериальных клеток белковой природы. V-антиген также является белком, W-антиген — липопротеидным комплексом. Эти антигены связаны с клеточной стенкой. Y. pestis имеет перекрестные антигены с другими иерсиниями и энтеробактериями (E. coli, Salmonella), а также с эритроцитами человека O-группы.

Патогенность и патогенез. Вирулентность возбудителя чумы связана прежде всего с его адгезией на эпителиальных клетках разных органов и тканей в зависимости от входных ворот инфекции. В адгезии участвует капсула и поверхностные структуры клеточной стенки. В инвазии, агрессии (подавлении фагоцитарной активности макрофагов) участвуют различные ферменты и токсины, продуцируемые этими бактериями. Существенное значение в патогенности Y. pestis имеет «мышиный» токсин, который блокирует функции клеточных митохондрий печени и сердца, а также вызывает образование тромбов. «Мышиный» токсин относится к белковым токсинам, прочно связанным с бактериальной клеткой, синтез которого контролируется плазмидой. Так же как и другие белковые токсины, он состоит из двух субъединиц, одна из которых ответственна за прикрепление токсина к клетке хозяина, другая — за токсические свойства. Наряду с ним токсичность и аллергизация организма связаны с ЛПС (эндотоксин) и другими компонентами клеточной стенки. Определенную роль в вирулентности чумных бактерий играют такие ферменты, как плазмокоагулаза и фибринолизин, локализованные в наружной мембране бактериальной клетки. При этом происходит нарушение активации комплемента и появление геморрагий и некрозов в лимфоузлах. Факторы патогенности закодированы в хромосоме и плазмидах.

Патогенез и клинические формы чумы зависят от входных ворот инфекции. Различают кожную, бубонную, легочную и другие клинические формы чумы. При пониженной сопротивляемости организма большой дозе возбудителя может возникнуть первичная септическая форма болезни. Вторичный сепсис возникает при любой клинической

форме чумы. При этом больные выделяют возбудителя с мочой, мокротой, калом. Первичная легочная форма чумы возникает при заражении аэрозольным путем, вторичная — гематогенно как осложнение. До появления антибиотиков смертность при чуме была очень высокой.

Иммунитет. Постинфекционный иммунитет характеризуется высокой напряженностью, связанной с гуморальными (антителами) и клеточными (фагоцитоз) факторами.

Экология и эпидемиология. Чума относится к зоонозным инфекциям с природной очаговостью. Резервуар инфекции — грызуны (суслики, тарабаганы, сурки, песчанки и др.). Переносчиками являются блохи. Вспышкам чумы среди людей обычно предшествуют эпизоотии среди грызунов. От человека к человеку чума передается воздушно-капельным путем только от больных легочной формой чумы.

Лабораторная диагностика. Проводится в режимных лабораториях путем бактериоскопического исследдования материала и обязательного выделения чистой культуры возбудителя. Ее идентифицируют по морфологическим, биохимическим и антигенным свойствам на чувствительных животных, а также в биопробах с применением иммунофлюоресцентного метода и более современных методов диагностики. Из трупов возможно выделить чумной антиген для постановки реакции термопреципитации (схема 20.9).

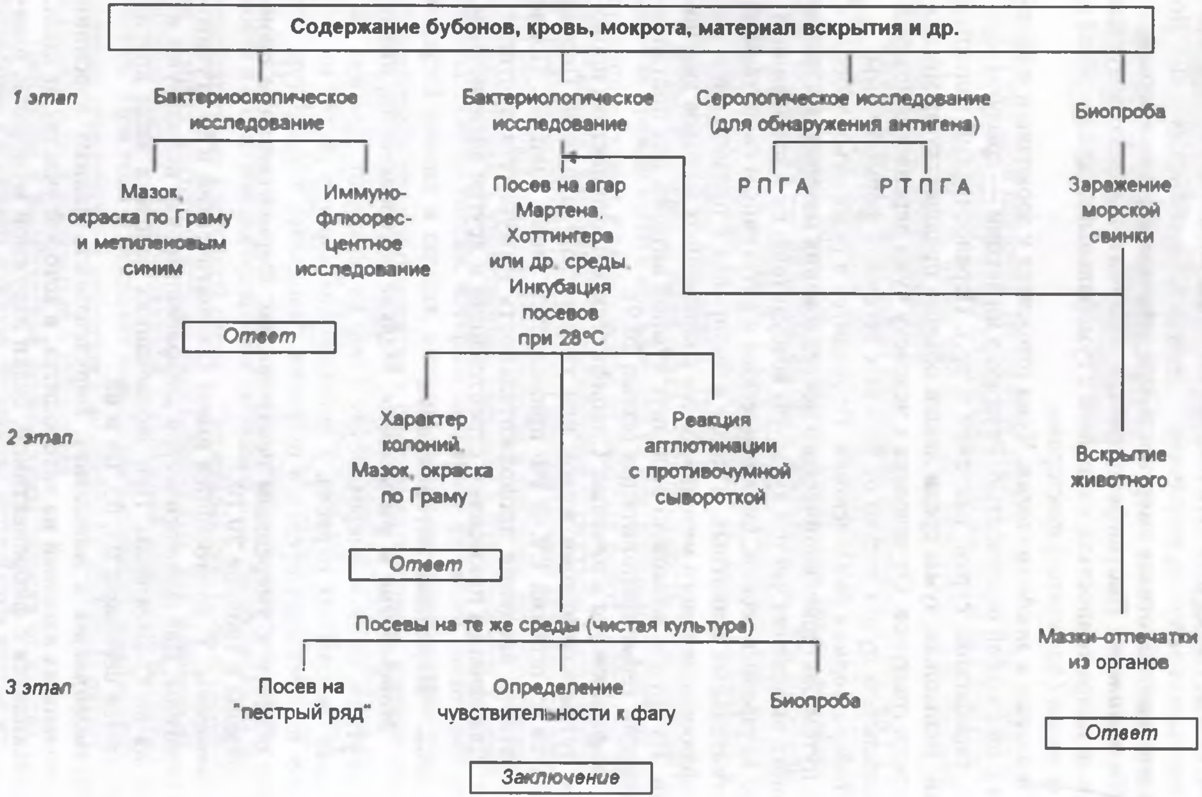
Профилактика и лечение. Специфическая профилактика проводится путем вакцинации живой или химической вакциной. Первая готовится из штамма EV. В РФ применяется живая вакцина. После однократного введения продолжительность иммунитета достигает 6 мес. Для лечения применяют стрептомицин и другие антибиотики.

20.2.1.6.2. Иерсинии энтероколита

Морфология и физиология. Мелкие коккобактерии, имеющие жгутики, пили и микрокапсулу. Спор не образуют. Для них характерна биполярная окраска. J. enterocolitica хорошо растет на основных питательных средах в широких диапазонах температур. Их можно отнести к умеренным психрофилам. Ферментативные свойства указаны в таблице 20.10.

Антигены. Y. enterocolitica имеет О-соматический и Н-жгутиковые антигены. Для серологической дифференцировки используют их различия по О-антигенам. При заболеваниях человека чаще других встречаются серовары 03, 05, 06 и 08.

Патогенность и патогенез. Вирулентность данных иерсиний обусловлена их адгезией на энтероцитах, в которой участвуют пили, соединяющиеся с фибронектином, белки наружной мембраны, взаимодействующие с рецепторами макрофагов и тромбоцитов. Это приводит к нарушению цитоскелета. Иерсинии, попавшие в макрофаги, размножаются в них. Вместе с тем Y. enterocolitica продуцируют фос-



С х е м а 20.9. Микробиологические исследования при чуме

фатазу и протеинкиназу, которые нарушают функции макрофагов. Токсическое действие этих бактерий связано с ЛПС и с выделением термостабильного энтеротоксина. Кишечный иерсиниоз проявляется в развитии острого гастроэнтерита, а также тяжелых и септических форм, которые чаще возникают у пожилых лиц, страдающих хроническими заболеваниями.

Экология и эпидемиология. Кишечный иерсиниоз антропонозо-зоонозная инфекция. Источниками инфекции являются больные люди и животные, а также бактерионосители. Передача инфекции происходит алиментарным путем с зараженными пищевыми продуктами: фруктами, овощами, мороженым. Особенностью кишечных иерсиний является их способность размножаться в пищевых продуктах, хранящихся в холодильниках.

Лабораторная диагностика. Основным методом является бактериологическое исследование. Выделенную культуру дифференцируют от других иерсиний по биохимическим (см. табл. 20.10) и серологическим признакам. Для серодиагностики используют РНГА и другие реакции.

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика отсутствует. Для лечения применяют антибиотики широкого спектра действия.

20.2.1.6.3. Иерсинии псевдотуберкулеза

Открыты Малассе и Виньялем в 1983 г.

Морфология и физиология.Y. pseudotubereulosis представляют собой грамотрицательныене кокковидные палочки. Они имеют жгутики и образуют капсулу (рис. 20.18). Неприхотливы к питательным средам. Размножаются в широком диапазоне температур. На плотных средах образуют S- и R-формы колоний. Являются факультативными анаэробами. Биохимические свойства представлены в табл. 20.10.

Антигены. Бактерии псевдотуберкулеза имеют Н- и О-антигены. О-антиген отличается от подобных антигенов других энтеробактерий структурой повторяющихся звеньев полисахаридной цепи ЛПС. Различают 10 сероваров этих бактерий, которые отличаются друг от друга по О-антигенной специфичности. Наибольшее значение в патологии человека имеют I, III и IV серовары.

Рис. 20.18. J. Pseudo-tuberculosis. ЭМ

Патогенез. Вирулентность обусловлена способностью подавлять фагоцитоз, их пенетрационными и инвазивными свойствами. Токсичность связана с эндо-

токсином (ЛПС), а также продукцией белкового экзотоксина. После проникновения возбудителя в желудочно-кишечный тракт поражается лимфоидная ткань кишечника и возникает мезентериальный лимфоаденит. Бактерии размножаются в лимфоцитах, а затем проникают в кровь, вызывая бактериемию. В патогенезе псевдотуберкулеза существенное значение имеет аллергизация организма.

Иммунитет. При псевдотуберкулезе имеет место гуморальный и клеточный иммунный ответ. Последний выражен в аллергизации организма и формировании ГЗТ. Антитела не обладают протективными свойствами, что приводит к возникновению повторных заболеваний.

Экология и эпидемиология. Псевдотуберкулез является зоонозной инфекцией. Основной резервуар инфекции в природе — грызуны (полевки, домовая мышь, крысы и др.). Люди заражаются алиментарным путем при употреблении главным образом овощей и фруктов. Способность иерсиний размножаться при температуре 2–40°С приводит к накоплению их в пищевых продуктах хранящихся в холодидьниках. В РФ в 1959 г. на Дальнем Востоке была зарегистрирована вспышка заболеваний, получившая название скарлатиноподобной лихорадки, вследствие появления на коже мелкоточечной скарлатиноподобной сыпи.

Лабораторная диагностика. Бактериологическое исследование является наиболее надежным методом диагностики псевдотуберкулеза. Широко применяется иммунофлюоресцентный метод. Серодиагностика проводится в РНГА и других серологических реакциях.

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика не разработана. Для лечения используют антибиотики широкого спектра действия.

20.2.2. Возбудители пищевых отравлений микробной природы

К пищевым отравлениям микробной природы относят острые системные заболевания, возникающие в результате употребления пищевых продуктов, массивно обсемененных некоторыми микроорганизмами или зараженных микробными экзотоксинами. Это определение позволило подразделить все пищевые отравления, связанные с микроорганизмами, на пищевые токсикоинфекции и интоксикации. Первые вызывают преимущественно грамотрицательные бактерии, среди которых энтеробактерии занимают первое место. При этом название токсикоинфекции определяется поступлением в кровь бактериального эндотоксина (ЛПС), освобождающегося в большом количестве после массивного разрушения бактерий. Пищевые продукты, содержащие экзотоксины бактерий, вызывают пищевые интоксикации, а токсины грибов — микотоксикозы.

20.2.2.1. Возбудители пищевых токсикоинфекций

Возбудителями пищевых токсикоинфекций являются прежде всего сальмонеллы, вызывающие заболевания у людей и животных (серогруппы А, В, С, D по Кауфману и Уайту, см. табл. 20.7), а также другие энтеробактерии (Shygella sonne, E. coli, Proteus sp., Klebsiella enterocolytica, Enterobacter sp., Serratia sp. и др.).

Патогенность и патогенез. Упомянутые бактерии, так же как и сальмонеллы, могут размножаться в пищевых продуктах и вызывать токсикоинфекции при массивных поступлениях в организм алиментарным путем, выделяя после разрушения эндотоксин (ЛПС). Пищевые токсикоинфекции протекают по типу острейшего гастроэнтерита с общетоксическими явлениями. Заболевание возникает при поступлении с пищей в желудочно-кишечный тракт большого количества бактерий, их бурным размножением в тонкой кишке, проникновением в лимфоидную ткань и массовой гибелью с освобождением эндотоксина. При этом независимо от вида возбудителя механизм действия эндотоксина (ЛПС клеточных стенок грамотрицательных бактерий) одинаков. Он характеризуется поражением интрамурального нервного аппарата кишечника, мелких сосудов и клеток ЦНС, а также общетоксическим синдромом вплоть до коллапса.

20.2.2.2. Возбудители пищевых интоксикаций

Пищевые интоксикации возникают при приеме пищи, зараженной токсинами, либо бактериями и их токсинами, а также токсинами грибов, как указывалось выше. К ним относятся белковые экзотоксины C. botulinum, C. perfringens, C. difficile, Staphylococcus aureus.

Токсичность. Патогенез. *Clostridium botulinum* в отличие от других возбудителей токсикозов продуцирует не энтеротоксин, а нейротоксин, который образуется возбудителем в пищевых продуктах в анаэробных условиях. Различают 7 сероваров ботулинистического токсина. Ботулотоксин, поступая с пищей в желудочно-кишечный тракт, всасывается через кишечную стенку в лимфу и кровь. Механизм действия состоит в ингибиции Са-зависимого освобождения ацетилхолина и блокаде передачи импульсов через нервно-мышечные синапсы. В результате поражения бульбарных нервных центров продолговатого мозга появляется расстройство аккомодации, двоение в глазах и другие симптомы.

Clostridium perfringens, попадая в пищевые продукты, в анаэробных условиях продуцирует энтеротоксин, относящийся к группе цитотоксинов, вызывающий диффузный понос. Кроме того, Clostridium perfringens вызывает клостридиальные гастроэнтериты и некротические энтериты, обусловленные действием энтеротоксина, выделяемого возбудителем при его размножении в тонкой кишке. При этом развивается геморрагическое воспаление и общая интоксикация организма.

Энтеротоксин *Clostridium difficile,* попадая в желудочно-кишечный тракт, всасывается через кишечную стенку в кровь, воздействуя так же, как холероген и термолабильный энтеротоксин на аденилатциклазную систему, что приводит к накоплению цАМФ, следствием которого является обезвоживание организма и диарея. Энтеротоксин этих бактерий относится к группе функциональных блокаторов. Кроме того, они, по-видимому, также как C.perfringens, секретируют энтеротоксин, относящийся к цитотоксинам, вызывающий диффузный понос.

Некоторые штаммы *Staphylococcus aureus*, при размножении в определенных продуктах выделяют энтеротоксин, что приводит к пищевой интоксикации и диффузному поносу. Стафилококковый энтеротоксин, попадая с пищей в желудочно-кишечный тракт, всасывается через кишечную стенку в кровь, воздействуя через парасимпатическую систему на сердечную мышцу и систему кровообращения. Это приводит к гипотензивному эффекту. Стафилококковый энтеротоксин относится к группе цитотоксинов, так же как и энтеротоксин C. perfringens. Угнетение нормальной микрофлоры кишечника способствует размножению бактерий и секреции этих токсинов.

Экология и эпидемиология. Источником инфекции являются люди и животные (больные и носители), выделяющие микроорганизмы во внешнюю среду. Передача инфекции всегда происходит с пищевыми продуктами (мясо, молоко, рыба и изделия из них — фарш, студень, паштет, салаты и др.), которые инфицируются в процессе изготовления, транспортировки, хранения и реализации готовой продукции. Многие бактерии размножаются и продуцируют экзотоксины не только в пищевых продуктах, но и в кишечнике. Через питьевую воду возбудители пищевых отравлений не передаются, поскольку в воде они не размножаются и не секретируют экзотоксины.

Лабораторная диагностика. Основным методом является бактериологическое исследование, которое заключается в выделении и идентификации бактерий из двух источников: подозреваемых пищевых продуктов и организма человека. В качестве исследуемого материала используют испражнения, рвотные массы, а также кровь для обнаружения экзотоксина. Материал сеют на серию питательных сред, обеспечивающих размножение возможных возбудителей. Выделение одного и того же микроорганизма из пищевого продукта и организма человека позволяет поставить диагноз заболевания. В случае выделения условно-патогенных бактерий проводят количественные посевы, чтобы исключить присутствие нормальной микрофлоры.

Наличие экзотоксина в исследуемом материале и его тип устанавливают в реакции на белых мышах или в РНГА.

Серодиагностика не проводится, поскольку за короткий срок течения заболевания антитела не успевают синтезироваться. Аллергические пробы также не ставятся, так как при этих заболеваниях аллергизации организма не происходит.

20.3. СЕМЕЙСТВО ВИБРИОНОВ

К семейству Vibrionaceae относятся несколько родов, из которых род Vibrio включает патогенные и условно-патогенные для человека виды. К патогенным относятся возбудитель холеры — V. cholerae и V. eltor, к условно-патогенным — Aeromonas hydrophilia и Plesiomonas.

20.3.1. Холерный вибрион

V. cholerae был выделен Р. Кохом в 1882 г., а V. eltor — на карантинной станции Ель-Тор также в Египте. Другие роды данного семейства содержат условно-патогенные виды (V. proteus, вибрион Мечникова, V. plesiomonas, светящийся вибрион), которые могут вызвать гастроэнтериты.

Морфология и физиология. Слегка изогнутая грамотрицательная полиморфная палочка. Монотрих. Спор и капсул не образует (*см. рис. 20.19, 20.20 на цв. вкладке*). Вибрионы относятся к хемоорганотрофам с окислительным и бродильным типами метаболизма. Ферментируют многие углеводы: глюкозу, мальтозу, сахарозу и другие с образованием кислоты. Разжижают желатин, образуют индол, восстанавливают нитраты в нитриты. Продуцируют такие ферменты как лецитиназа, лизиндекарбоксилаза, орнитиндекарбоксилаза, нейраминидаза. Способность восстанавливать нитраты и образовывать индол лежит в основе положительной нитрозо-индоловой пробы — реакции холера-рот. Вибрионы хорошо растут на простых средах при щелочной реакции pH = 8,5–9,0. На плотных средах образуют небольшие прозрачные круглые колонии, на жидких — пленку с легким помутнением среды. Вибрионы — факультативные анаэробы, образуют цитохромоксидазу.

Антигены. Холерные вибрионы имеют два антигена: О-антиген типоспецифический термолабильный и Н-антиген жгутиковый видоспецифический термостабильный. Возбудители холеры имеют 01-антиген. Вибрионы, относящиеся к серогруппам 02, 03, 04 могут вызвать энтериты и гастроэнтериты. 01-антиген состоит из трех компонентов — А, В, С, разные сочетания которых образуют сервары Огава (АВ), Инаба (АС), Гикошима(АВС). Часто выделяются вибрионы, не

агглютинирующиеся 01 антисывороткой. Их называют неагглютинирующимися НАГ-вибрионами.

Патогенность и патогенез. Холерный вибрион с помощью жгутика и фермента муциназы проникает в слизистую оболочку тонкой кишки и прикрепляется к энтероцитам. Адгезия происходит за счет филаментоподобного вещества, находящегося на клеточной стенке вибриона. Затем начинается колонизация слизистой кишки. При этом вибрионы не проникают в энтероциты, а находятся на их поверхности.

Основным фактором патогенности вибриона является секреция белковых токсинов. Это прежде всего *холероген*, который относится к функциональным блокаторам. Он, как и многие другие экзотоксины, состоит из двух субъединиц А и В. Последняя не ядовита. Она обеспечивает прикрепление специфического рецептора мембраны энтероцитов тонкой кишки — моносиалоганглиозида — к клеткам кишечного эпителия, способствующего трансмембранному переносу А-субъединицы в цитоплазму. Субъединица А обеспечивает токсичность, вызывая активацию аденилатциклазы. Это приводит к увеличению количества цАМФ (циклический монофосфат) и соответственно — к нарушению водно-солевого обмена, обусловленного выделением ионов натрия и хлора и обезвоживанию организма — характерного синдрома холеры. При этом организм теряет до 30 л жидкости в сутки. Одновременно блокируется АТФ-аза, что приводит к нарушению внутриклеточного транспорта и потере воды, а также нарушению межклеточных контактов. Холерный вибрион, так же как и другие грамотрицательные бактерии, образует эндотоксин (ЛПС в составе клеточной стенки), который защищает возбудителя от фагоцитоза и обладает другими функциями, описанными в разделе «Инфектология».

Иммунитет. При холере наблюдается гуморальный иммунный ответ, который характеризуется появлением антитоксических (к холерогену) и антибактериальных иммуноглобулинов. При этом существенную роль играют секреторные иммуноглобулины (SIgA), препятствующие адгезии вибриона.

Экология и эпидемиология. Единственным источником инфекции в природе является больной человек и бактерионосители. При холере El-Tor отмечается длительное бактерионосительство и многочисленные атипические формы болезни, что способствует распространению возбудителя. Заражение человека происходит через воду или продукты. Возможно заражение контактным путем. Холера является древнейшей инфекцией, которая периодически распространялась на многие страны и континенты, унося миллионы жизней. До сих пор эндемическим очагом холеры считаются бассейны рек Ганга и Брахмапутры в Индии.

С х е м а 20.10. Микробиологические исследования при холере

Лабораторная диагностика. Имеет исключительно важное значение для своевременного предотвращения эпидемий холеры. Используют бактериоскопический, иммунофлюоресцентный методы. Бактериологическое исследование с выделением чистой культуры возбудителя и его идентификацией по комплексу признаков и дифференциацией от бактерий родов Aeromonas и Plesiomonas. Для эпидемиологического анализа устанавливают фаговар выделенной культуры. В настоящее время для диагностики холеры применяют ДНК-зонды и ЦПР (цепная полимеразная реакция) (схема 20.10, рис. 4.4, 4.5).

Профилактика и лечение. Основные средства борьбы с холерой — раннее выявление больных и вибрионосителей, а также лиц, контактировавших с ними с последующей их изоляцией. Для вакцинопрофилактики используют несколько видов вакцин: корпускулярная убитая, холероген-анатоксин, живая для перорального применения. В нашей стране массовая вакцинация не проводится. Для поздней профилактики и лечения чаще всего применяют тетрациклин.

20.4. АЭРОБНЫЕ, МИКРОАЭРОФИЛЬНЫЕ, ПОДВИЖНЫЕ, СПИРАЛЬНО-ИЗОГНУТЫЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ

20.4.1. Кампилобактер

Род Campylobacter (*Campyla* — изогнутые) относится к группе аэробных или микроаэрофильных подвижных спирально изогнутых грамотрицательных бактерий. Наибольшее значение в патологии человека имеет C. jejunii. Реже встречаются C. fetus и C. coli. Ранее отнесенный к данному роду C. pylori выделен в род Helicobacter.

Морфология и физиология. Тонкие вибриоидные клетки, имеющие один или более витков спирали (*рис. 20.21 на цв. вкладке*). Споры не образуют. Подвижные, совершают характерное винтовое движение с помощью одиночных жгутиков, расположенных на одном или обоих частях клетки. Хемоорганотрофы не требовательны к питательному субстрату (*рис. 20.22 на цв. вкладке*), не сбраживают углеводы. Для получения энергии используют аминокислоты, а не углеводы. Оксидазоположительные и уреазоотрицательные. Пигментов не образуют.

Антигены. Кампилобактеры содержат О-, К- и Н-антигены. В настоящее время выделено свыше 50 О-серогрупп кампилобактеров.

Патогеность и патогенез. К факторам вирулентности относят жгутики и муциназу, способствующие проникновению в слизистую оболочку тонкой кишки. Обладают умеренной пенетрационной актив-

ностью. Их токсичность связана с секрецией энтеротоксинов (функциональные блокаторы), нарушающими водно-солевой обмен через образование цАМФ, аналогично энтеротоксинам E. coli и V. cholerae. При разрушении кампилобактеров освобождается эндотоксин. Описаны цитотоксины, вызывающие гибель чувствительных клеток. После колонизации участка тонкой кишки они могут проникнуть в кровяное русло, вызывая генерализованную инфекцию, чаще у иммунодефицитных лиц. В патогенезе кампилобактериозных энтеритов преобладают явления диареи или дизентериеподобных состояний. При этом C. jejunii и C. fetus вызывают энтериты у людей. C. jejunii встречается также при абортах овец. C.fetus чаще встречается у пожилых людей с иммунодефицитами, а также при некишечных формах кампилобактериоза, вызывая поражение паренхиматозных органов и даже сепсис.

Иммунитет. При кампилобактериозе наблюдается гуморальный иммунный ответ. Однако образующиеся антитела не обладают выраженными протективными свойствами.

Экология и эпидемиология. Источником инфекции являются больные животные и люди, от которых кампилобактеры попадают в пищевые продукты (мясо, молоко) и воду. Передача инфекции происходит алиментарным путем. Возможен и контактно-бытовой путь. В окружающей среде при 4°–10°C сохраняются около недели. Зарегистрированы пищевые, молочные и водные вспышки кампилобактериоза, чаще у детей.

Лабораторная диагностика. Проводится бактериологическим методом с выделением чистой культуры возбудителя и ее идентификацией.

Профилактика и лечение. Вакцинопрофилактика не разработана. Для лечения применяются фторхинолоны, аминогликозиды, хлорамфеникол.

20.4.2. Хеликобактер

Род Helicobacter ранее относился к роду Кампилобактер, однако в настоящее время выделен в самостоятельный род.

Морфология и физиология. H.pylori представляют собой мелкие грамотрицательные палочки, лофотрихи, микроаэрофилы. Растут на сложных питательных средах. Продуцируют каталазу и оксидазу, которые используют для идентификации этих бактерий.

Патогенность и патогенез. К факторам вирулентности хеликобактеров относят их способность к движению и участие в проникновении в слизистую оболочку. Фермент уреаза при разрушении мочевины до аммиака и CO_2 приводит к образованию газовой оболочки, защищающей от кишечного сока. Хеликобактеры продуцируют фос-

фолипазы, разрушающие фосфолипиды. Их токсичность связана с цитотоксином, действующим на эпителиальные клетки, токсином, нарушающим межклеточные контакты, и с ЛПС. Кроме того, на поверхности клеток образуются белки теплового шока, которые рассматривают как реакцию на стресс. Это приводит к аутоиммунному воспалению и образованию язв в желудке и двенадцатиперстной кишке. H. pylori выделяются в 80% случаев язвенных гастритов.

Экология и эпидемиология. Является представителем нормальной микрофлоры животных. Пути передачи человеку окончательно не выяснены. По-видимому, люди заражаются алиментарным путем.

Лабораторная диагностика. Используют такие тесты, как обнаружение продуктов распада мочевины в выдыхаемом воздухе, определяют уреазную активность биоптата. Проводят бактериоскопическое и бактериологическое исследование биоптата.

Профилактика и лечение. Для лечения используют полусинтетические пенициллины, аминогликозиды, фторхинолон.

20.5. СЕМЕЙСТВО ПАСТЕРЕЛЛА

К семейству Pasterellaceae относятся несколько родов, из которых интерес для инфекционной патологии представляют три рода: Haemophilus, Gardnerella и Cardiobacterium. К роду Haemophilus относятся H. influenzae и H. ducrey, вызывающие воспалительные процессы и мягкий шанкр соответственно. К роду Gardnerella относится единственный вид G. vaginalis, вызывающий вагиниты, циститы и уретриты. К роду Cardiobacterium — единственный вид C. hominis, вызывающий эндокардиты.

20.5.1. Гемофилы инфлюэнцы

В 1889 г. М.И. Афанасьев и в 1892 г. Р. Пфейффер и С. Китасато при изучении этиологии гриппа из мокроты больных выделили мелкие палочковидные грамотрицательные микроорганизмы. Выделенные бактерии, которые впоследствии были включены в род Haemophilus, долгие годы считались возбудителем гриппа. При дальнейшем их изучении было установлено, что они не являются возбудителями гриппа, а способны вызывать различные воспалительные процессы.

Морфология и физиология. Haemophilus influenzae имеет вид мелких палочек. Встречаются нитевидные формы. Свежевыделенные бактерии имеют капсулу. Спор не образуют (*рис. 20.23 на цв. вклейке*). Палочки инфлюэнцы требовательны к условиям культивирования, они нуждаются в присутствии гемина и НАД (никотинамидди-

нуклеотида). Гемин освобождается из эритроцитов при нагревании. Для культивирования используют агар с гретой кровью (*рис. 20.24 на цв. вкладке*). В настоящее время разработаны синтетические питательные среды с добавлением факторов роста. Выросшие колонии небольшие, прозрачные, плоские. Обладают небольшой ферментативной активностью. Расщепляют глюкозу и сахарозу с образованием кислоты, менее постоянно расщепляют галактозу, фруктозу, мальтозу и ксилозу.

Антигены. Видовая антигенная специфичность обусловливается капсульным полисахаридом. Капсульные штаммы на основании различия в капсульном полисахариде разделяются на несколько сероваров: a, b, c и т.д. Некапсульные штаммы имеют только термостабильный соматический антиген. Наиболее часто из организма выделяются штаммы серовара b.

Патогенность и патогенез. Вирулентные свойства H.influenzae связаны с капсульным полисахаридом, который защищает бактерии от фагоцитоза. Токсичность связана с ЛПС и продукцией мембранотоксина (гемолизина). Гемофилы инфлюэнцы выделяют фермент протеазу, разрушающую секреторные иммуноглобулины (SIgA). В организме человека Haemophilus influenzae локализуется на слизистой оболочке верхних дыхательных путей и вызывает у человека заболевания с различными клиническими проявлениями: менингит, эндокардит, поражения дыхательного тракта, отит, конъюнктивит, гнойные воспалительные поражения суставов и др. Некапсульные варианты возбудителя часто выделяются от больных хроническими бронхитами, бронхиальной астмой. Наиболее часто болеют дети до 5 лет.

Экология и эпидемиология. У здоровых людей средой обитания H. influenzae является слизистая оболочка верхних дыхательных путей. Источник инфекции — человек. Передача происходит воздушно-капельным путем. Во многих случаях является причиной вторичных инфекций, которые возникают как осложнения после перенесения основного заболевания в связи с развитием иммунодефицита.

20.5.2. Гемофилы Дюкрея (мягкого шанкра)

Гемофилы Дюкрея являются возбудителями венерической болезни мягкий шанкр. Открыты Дюкреем в 1889 г.

Морфология и физиология. Мелкие палочки, не образующие спор и капсул, неподвижны. В гное имеют форму коккобактерий и располагаются группами или цепочками. Растут на кровяном агаре в виде мелких сероватых изолированных колоний, окруженных небольшой зоной гемолиза. Ферментативная активность невелика.

Патогенность и патогенез. К факторам вирулентности возбудителя относятся капсула, белки наружной мембраны, гемолизины, про-

теазы, действующие на секреторные иммуноглобулины и белки, связывающие гемоглобин. У человека первые симптомы заболевания возникают на месте внедрения возбудителя через 3–5 дней в виде гнойного пузырька, переходящего в дальнейшем в язву (одну или несколько) с подрытым краем и гнойным отделяемым. Язва с мягкими краями и дном, болезненна и достигает величины 1–1,5 см. Располагаются язвы на половых органах и могут сопровождаться лимфаденитами. Через 1–2 мес. язвы зарубцовываются, но болезнь иногда протекает длительно.

Иммунитет перенесенное заболевание не оставляет. Со 2-й недели болезни появляются аллергические реакции.

Экология и эпидемиология. Антропонозная инфекция. Возбудитель передается половым путем. В РФ в настоящее время регистрируется редко.

Лабораторная диагностика основывается главным образом на бактериоскопическом исследовании содержимого язв, которое одновременно исследуют и на наличие бледной трепонемы. Бактериологический метод при диагностике мягкого шанкра применяется редко ввиду его сложности и ненадежности. С 8-го дня болезни можно проводить аллергическую пробу.

Профилактика и лечение. Для лечения применяются антибиотики.

20.5.3. Гарднереллы

Морфология и физиология. Gardnerella vaginalis представляют собой мелкие полиморфные палочки и коккобактерии,грамвариабельные,чаще грамотрицательные. Спор не образуют, неподвижны (*рис. 20.25 на цв. вкладке*). Клеточная стенка имеет сложную структуру. Она содержит в своем составе N-ацетилглюкозамин и ряд аминокислот. Диаминопимелиновая и тейхоевые кислоты не обнаружены. Есть ЛПС-фракция. По структуре клеточной стенки напоминают и Гр-, и Гр+ бактерии. Иногда гарднереллы содержат суданофильные включения и метахроматические зерна. Большинство — факультативные анаэробы, но есть и строгие анаэробы. Гарднереллы требовательны к составу питательных сред. На кровяном агаре вокруг мелких пылевидных колоний наблюдается бета-гемолиз. Лучше культивируются в анаэробных условиях. Ферментируют некоторые углеводы до образования кислоты. Основной продукт ферментации — уксусная кислота. Не имеют оксидазы и каталазы.

Антигены. Содержат неспецифические антигены, сходные с антигенами дрожжеподобных грибов рода Candida.

Патогенез. Факторы вирулентности изучены мало. Содержат эндотоксин (ЛПС), продуцируют гемолизины и фермент сиалидазу, действующую на протеины эукариотических клеток. Гарднереллы вызы-

вают у женщин вагиниты и реже циститы и уретриты, у мужчин — эпидидимиты и уретриты.

Иммунитет малонапряженный, встречаются рецидивы заболевания.

Экология и эпидемиология. Источник инфекции — больные и здоровые женщины. Инфекция передается половым путем и, возможно, при родах и оперативных вмешательствах. G. vaginalis паразитируют во влагалище здоровых женщин. Однако при вагинитах их количество резко увеличивается.

Лабораторная диагностика. При микроскопическом исследовании в материале из влагалища обнаруживаются гарднереллы, покрывающие густым слоем эпителиальные клетки. При бактериологическом исследовании можно выделить чистую культуру. Весьма эффективным методом является газо-жидкостная хроматография.

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика не разработана. Для лечения применяют современные пенициллины, клиндамицин и другие антибиотики.

20.5.4. Кардиобактерии

Cardiobacterium hominis — представляют собой грамотрицательные прямые палочки с закругленными концами, плеоморфные. Располагаются в виде одиночных клеток, коротких цепочек и в парах. Жгутиков не имеют. Факультативные анаэробы. Хемоорганотрофы. На кровяном агаре образуют гладкие, выпуклые, матовые колонии. Метаболизм бродильного типа. Ферментируют глюкозу, мальтозу, сахарозу и другие углеводы с образованием кислоты. Образуют индол, не образуют сероводород и не продуцируют уреазу. Кардиобактерии выделены от больных эндокардитом. Из факторов патогенности известно только образование эндотоксина (ЛПС).

Лабораторная диагностика проводится бактериологическим методом путем выделения чистой культуры и ее идентификации по морфологическим, биохимическим и серологическим признакам. Проводится серодиагностика.

Для лечения используют цефалоспорины и другие антибиотики.

20.6. ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ АЭРОБНЫЕ МИКРОАЭРОФИЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ

К данной группе относятся многочисленные роды, среди которых наибольшее значение в патологии человека имеют псевдомонады, бордетеллы, бруцеллы, франциселлы, легионеллы.

20.6.1. Псевдомонады

К роду Pseudomonas относятся многочисленные виды, свободно живущие в почве, воде, организме животных и растений. Три вида патогенны для человека: P. aeruginosa — вызывающие разнообразные гнойно-воспалительные процессы, P. mallei — возбудитель сапа и P. pseudomallei — мелиоидоза. Бактерии рода Pseudomonas — грамотрицательные палочки, не образующие спор. Многие виды имеют жгутики и образуют капсулоподобную оболочку. Аэробы, не требовательные к питательной среде.

20.6.1.1. Синегнойная палочка

Род Pseudomonas включает свыше 20 видов. Открыта А. Люкке в 1862 г.

P. aeruginosa, или синегнойная палочка, длительное время считалась условно-патогенным микроорганизмом. Только на фоне широкого применения антибиотиков значительно участились случаи возникновения разнообразных гнойно-воспалительных процессов вплоть до генерализованных форм, этиологическим фактором которых явилась P. aeruginosa. Многие заболевания, вызываемые P. aeruginosa, относятся к внутрибольничной инфекции.

Морфология и физиология. Синегнойная палочка имеет прямую или слегка изогнутую форму. Монотрих, иногда имеет два или несколько полярно расположенных жгутиков и пили. Спор не образует, обладает способностью образовывать капсулоподобную оболочку (рис. 20.26). Хемоорганотроф, метаболизм только окислительный, хорошо растет на простых питательных средах. Дополнительных факторов роста не требует. Большинство штаммов образует растворимый пигмент пиоцианин, цвет которого зависит от pH среды — сине-зеленый в нейтральной или щелочной среде и красный в кислой. Некоторые штаммы образуют меланиновый пигмент (черный, коричнево-черный или красно-коричневый). Строгий аэроб, оксидазоположителен. Синегнойная палочка сахаролитически мало активна, ферментирует глюкозу. Хорошо выражена протеолитическая актиность, разжижает желатин, свернутую кровяную сыворотку, гидролизует казеин.

Рис. 20.26. Pseudomonas aeruginosa. Сканирующая ЭМ

Антигены. Синегнойная палочка обладает О- и Н-антигенами. По О-антигену разделена на серовары.

Патогенность и патогенез. Вирулентность синегнойной палочки обеспечивается гликопротеидиой капсулоподобной оболочкой, пилями, белками наружной мембраны клеточной стенки, участвующими в адгезии. P.aeruginosa продуцирует ряд токсинов и ферментов. Гликопротеид капсулоподобной оболочки легко отделяется от бактериальной клетки. Он обеспечивает защиту от фагоцитоза, а также является токсичным для клеток хозяина.

Экзотоксин А — термолабильный белок, ответственный за инвазивные свойства и угнетающий иммуногенез. Механизм действия заключается в блокировании синтеза белка.

Мембранотоксины, обладающие гемолитическими свойствами, можно подразделить на два типа. К гемолизину I типа относят термолабильный белок с лецитиназной активностью, способствующей возникновению очагов некроза. Гемолизин II типа — термостабильный белок, усиливающий действие гемолизина I типа. Способен растворять липиды мембран, что в случае эритроцитов приводит к гемолизу.

Лейкоцидин лизирует лейкоциты. Он представляет собой белок, тесно связанный с цитоплазматической мембраной. Выделяется только при аутолизе бактериальных клеток. Некоторые штаммы P.aeruginosa продуцируют *энтеротоксин.*

Синегнойная палочка продуцирует *нейраминидазу* и ряд протеолитических ферментов. Некоторые протеазы расщепляют эластин, казеин, фибрин. Протеазы продуцируются в виде неактивных проферментов, которые активируются особой протеазой. Все протеазы ингибируют активность белков иммунной системы.

Наряду с перечисленными токсинами и ферментами системное действие на организм хозяина оказывает ЛПС. Заболевания, вызванные синегнойной палочкой, прежде всего связаны с гнойно-воспалительными процессами, возникающими в ассоциациях со стафилококками, протеем, эшерихиями. Они наблюдаются при инфицировании операционных ран, особенно ожогов. P.aeruginosa — один из главных возбудителей госпитальной инфекции.

Иммунитет. В основном обеспечивается факторами неспецифической защиты организма. Фагоцитоз бактерий стимулируется противокапсульными антителами. Заболевание чаще возникает у иммунодефицитных лиц.

Экология и эпидемиология. Широкое распространение синегнойной палочки во внешней среде способствует легкому инфицированию людей. Она длительное время сохраняется на предметах обихода, плохо простерилизованном медицинском инструментарии и особенно в раневом отделяемом. Заражение происходит, главным образом,

контактным путем. В больницах, особенно хирургических отделениях, распространены эковары P. aeruginosa, высокоустойчивые к антибиотикам и антисептикам. Такие штаммы контаминируют лекарственные препараты и могут сохранять свою жизнеспособность в неконцентрированных растворах антисептиков и дезинфектантов.

Лабораторная диагностика. Проводят бактериологическое исследование путем выделения чистой культуры и ее идентификации.

Лечение. Применяют гентамицин, тоброминцин и другие антибиотики последних поколений.

20.6.1.2. Псевдомонады сапа

Возбудитель сапа — P. mallei — открыт Ф. Леффлером в 1882 г.

Морфология и физиология. Бактерии сапа обладают выраженным полиморфизмом. В препарате могут встречаться нитевидные клетки, клетки с колбовидными вздутиями и др. Грамотрицательна. Жгутиков, спор и капсул не образуют. В окрашенных палочках обнаруживаются гранулы включений полигидроксибутирата. Возбудитель сапа является хемоорганотрофом, для роста может использовать многие органические соединения в качестве единственного источника углерода. Строгий аэроб. Культивируется на средах с добавлением 4–5% глицерина. На глицериновом агаре рост появляется через 2 сут. в виде круглых серовато-белого цвета колоний слизистой консистенции, на глицериновом бульоне образуется помутнение, а затем пленка со слизистыми тяжами и осадком на дне. Ферментативные свойства выражены слабо. P. mallei разлагает глюкозу и ксилозу с образованием кислоты. Молоко свертывается, но не пептонизируется. При переваривании белков выделяется сероводород, желатин разжижается слабо.

Антигены. Возбудитель сапа содержит специфические полисахаридные и неспецифические нуклеопротеидные антигенные фракции.

Патогенность и патогенез. Факторы вирулентности связаны с адгезией и проникновением возбудителя в лимфоузлы, а затем в кровь. Токсические свойства бактерий сапа обусловлены эндотоксином (ЛПС).

Иммунитет. Перенесенное заболевание оставляет незначительный и кратковременный иммунитет. Наряду с гуморальным иммунным ответом имеет место клеточный, выраженный в формировании ГЗТ. Аллергию можно выявить при постановке аллергической пробы с маллеином (аллергеном). У людей регистрируются повторные заболевания.

Экология и эпидемиология. Сап — зоонозная инфекции. От животных (лошади и др.) возбудитель передается людям контактным путем.

Лабораторная диагностика проводится бактериоскопическим (иммунофлюоресцентное исследование), бактериологическим методами, а также с помощью биопроб и серодиагностики (РСК, РНГА и др.). Аллергическая проба с маллеином ставится только для диагностики сапа у животных.

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика сапа не разработана. Людей, больных сапом, лечат антибиотиками.

20.6.1.3. Псевдомонады мелиоидоза

P. pseudomalli вызывает мелиоидоз — зоонозное заболевание, протекающее у людей по типу септицемии с поражением внутренних органов. В РФ не встречается. Заболевание регистрируется в странах с тропическим климатом.

20.6.2. Бордетеллы

К роду Bordetella относятся мелкие грамотрицательные бактерии. Это возбудитель коклюша B. pertussis, возбудитель паракоклюша B. parapertussis, возбудитель бронхисептикоза B. bronchiseptica, отличающиеся друг от друга по ряду морфологических, биохимических и антигенных признаков (табл. 20.11).

Таблица 20.11

Дифференциально-диагностические признаки бордетелл

Признак	Виды бордетелл		
	B.pertussis	B.parapertussis	B.bronchoseptica
Наличие жгутиков	–	–	+
Образование уреазы	–	+	+
Рост на простом агаре	–	+	+
Наличие антигена 1	+	–	–
Наличие антигена 12	–	–	+
Наличие антигена 14	–	+	–
Наличие капсулы	+	–	–

Обозначения: «+» — наличие признака;
«–» — отсутствие признака

20.6.2.1. Бордетеллы коклюша

Открыты Ж. Борде и О. Жангу в 1906 г.

Морфология и физиология. Возбудитель коклюша представляет собой небольшие коккобактерии, располагающиеся поодиночке или попарно. Неподвижны, спор не образуют, имеют капсулу, пили

Рис. 20.27. B. pertusis. Деление клетки. ЭМ

(рис. 20.27). Грамотрицательны. Хемоорганотрофы, метаболизм только окислительный, строгие аэробы. Возбудитель коклюша не растет на простых питательных средах. В качестве факторов роста необходимы некоторые аминокислоты. Рост на простых питательных средах ингибируется образующимися жирными кислотами. Для их нейтрализации применяют кровь, древесный уголь или ионообменные смолы. Возбудитель культивируется на картофельно-глицериновом агаре с добавлением крови (среда Борде–Жангу), на кровяном агаре и на полусинтетическом казеиново-угольном агаре без добавления крови. Колонии коклюшных бактерий мелкие, круглые, с ровными краями, блестящие, напоминающие капельки ртути или зерна жемчуга. Свежевыделенные культуры образуют S-форму колоний (1 фаза), при дальнейшем культивировании могут образовывать R-формы (2 фаза). На кровяных средах образуют зону гемолиза. B.pertussis ферментативно малоактивна, сахаров не расщепляет, не обладает протеолитической активностью, не восстанавливает нитратов.

Антигены. Антигенная структура бактерий рода Bordetella довольно сложная. У них выявлено 14 антигенных компонентов, или агглютиногенов. Родовым является агглютиноген 7. Видоспецифический агглютиноген для возбудителя коклюша — агглютиноген 1, для B. parapertussis — 14, для B. bronchiseptica — 12. Кроме агглютиногена 1 у B. pertussis имеются другие агглютиногены, из которых наиболее часто встречаются 2 и 3. По содержанию этих агглютиногенов выделяют 4 серовара.

Патогенность и патогенез. К факторам вирулентности относится способность возбудителя к адгезии за счет пилей на эпителиоцитах респираторного тракта. С пилями связан филаментозный гемагглютинин, склеивающий B. pertussis с другими бактериями с образованием биопленок, состоящих из разных микробов. Образует белковые токсины, прочно связанные с цитоплазмой:

1) трахеальный токсин (функциональный блокатор), вызывающий раздражение нервных рецепторов слизистой оболочки дыхвтельных путей, что приводит к возникновению приступов кашля. Токсинемия приводит к сосудистому спазму мелких бронхов, судорожному подергиванию вследствие его воздействия на дыхательный и сосудистый центры; кроме того, токсин активирует аденилатциклазную систему

и накопление цАМФ, что приводит к нарушению водно-солевого обмена;

2) дермонекротоксин, действующий на клетки миокарда за счет АТФ-азной активности. Отмечается гистаминосенсибилизирующее и лейкоцитозстимулирующее действие этих токсинов.

Способность B. pertussis к пенетрации в эпителиоциты, где они сохраняются длительное время, а также незавершенный фагоцитоз в результате их выживания в макрофагах. Капсульный полисахарид защищает бактерии от фагоцитоза. Все гены, контролирующие патогенность, содержатся в одном опероне. Токсическое действие возбудителя приводит к раздражению нервных рецепторов слизистой оболочки респираторного тракта, кашлю и возбуждает дыхательный центр, вследствие чего наступает спазм мелких бронхов.

Иммунитет. При коклюше имеет место гуморальный иммунный ответ, сопровождающийся формированием напряженного гуморального иммунитета. Повторные заболевания не отмечены.

Экология и эпидемиология. Бордетеллы коклюша и пара-коклюша являются обитателями верхних отделов респираторного тракта. B. bronchiseptica обитает в дыхательных путях собак и других животных. Источником инфекции являются больные дети и бактерионосители. Бордетеллы быстро погибают в воздухе. Заражение происходит воздушно-капельным путем при непосредственном общении с больным ребенком или носителем.

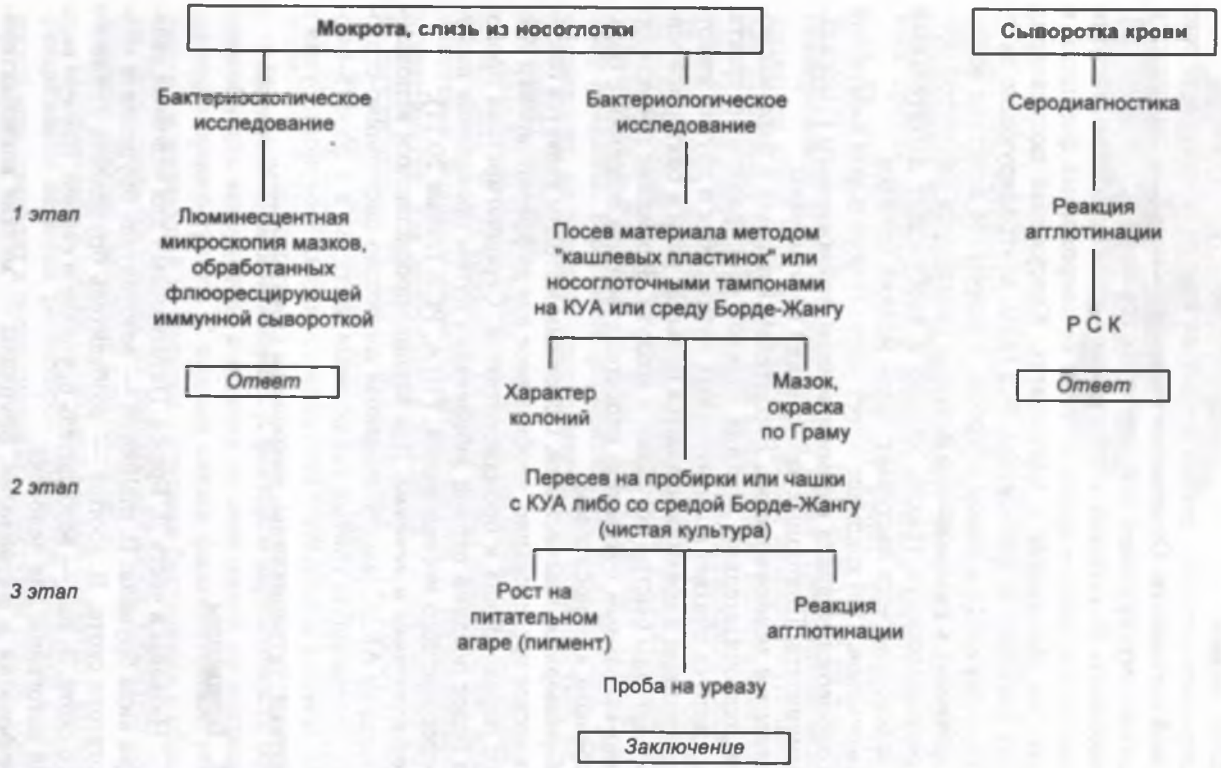
Лабораторная диагностика. Основным методом является бактериологическое исследование, необходимое для дифференцировки коклюша от паракоклюша и бронхисептикоза. Серодиагностика проводится в более поздний период заболевания путем проведения иммунофлюоресцентного исследования, РНГА, РСК (схема 20.11).

Профилактика и лечение. Для вакцинопрофилактики используют тривакцину АКДС (адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная), содержащую убитые коклюшные бактерии в 1 фазе (S-форме). Для лечения используют противококлюшный иммуноглобулин и антибиотики: тетрациклины, макролиды (эритромицин).

20.6.3. Бруцеллы

Названы в честь Д. Брюса. Патогенными для человека являются три вида бруцелл: B. melitensis — возбудитель бруцеллеза мелкого рогатого скота, B. abortus — возбудитель бруцеллеза крупного рогатого скота, B. suis — возбудитель бруцеллеза свиней. Все три вида бруцелл патогенны для человека.

Морфология и физиология. Бруцеллы — мелкие коккобактериальные грамотрицательные бактерии. Они не образуют спор, лишены жгутиков и имеют капсулу (рис. 20.28). Бруцеллы требовательны к



С х е м а 20.11. Микробиологические исследования при коклюше и паракоклюше

Рис. 20.28. B. melitensis. Деление клетки. ЭМ

питательным средам. Они нуждаются в нативном белке или в аминокислотах и других факторах роста. Размножаются медленно, особенно в первых генерациях.

Патогенность и патогенез. Факторами вирулентности бруцелл являются капсула, способность к инвазии, устойчивость к бактерицидному действию крови, секреция ферментов (гиалуронидаза и др.), которые способствуют их распространению в тканях. Бруцеллы множественными путями проникают в организм хозяина. Затем благодаря выраженной инвазивности попадают в лимфу и кровь, вызывая бактериемию. С кровью они разносятся по организму, проникают и размножаются в лимфоидных клетках, образуя гранулемы в печени, селезенке, лимфоузлах. Высокая инвазивность бруцелл, вероятно, связана с гиалуронидазой и другими ферментами. При разрушении бруцелл освобождается эндотоксин, вызывая присущие ему патологические явления. Хронический метастатический характер бруцеллезной инфекции проявляется поражением кроветворной, нервной, половой системы. У беременных возникают инфекционные аборты. Бруцеллы способны персистировать в лимфоидной ткани в течение длительных сроков. Периодические обострения инфекции связаны с их размножением и поступлением в кровь.

Однако в крови бруцеллы не размножаются.

Иммунитет. При бруцеллезе формируется напряженный гуморальный и клеточный постинфекционный иммунитет. Первый проявляется в антителообразовании: в сыворотке крови накапливаются агглютинины (вначале IgM, затем IgG) и опсонизирующие антитела, обладающие протективными свойствами. Клеточный иммунитет проявляется в аллергии замедленного типа (ГЗТ), которая выявляется с помощью кожно-аллергической пробы с бруцеллином, а также в реакции бласттрансформации лимфоцитов и торможении миграции макрофагов. Повторные заболевания практически не встречаются.

Экология и эпидемиология. Бруцеллез является типично зоонозной инфекцией. Человек заражается только от больных животных через мясо, молоко, брынзу, масло. Во многих случаях заболевание носит профессиональный характер, поскольку наиболее часто болеют люди, работающие со скотом. Бруцеллы устойчивы к факторам окружающей среды. Они месяцами сохраняются в моче, навозе больных животных, в шерсти овец, в пыли. Хорошо переносят низкие температуры: в замороженном мясе сохраняются до полугода. Высокочувствительны к дезинфектантам и повышенным температурам.

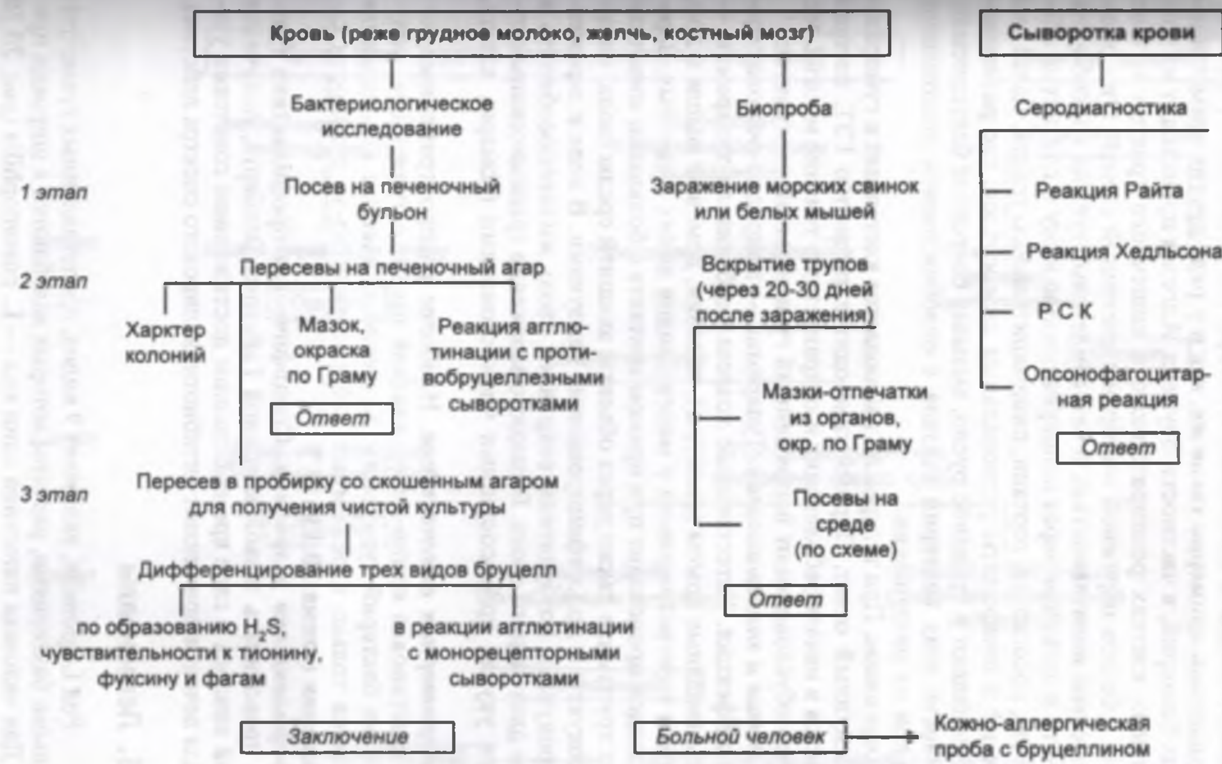
Лабораторная диагностика. Бруцеллы могут быть выявлены непосредственно в патологическом материале и объектах внешней среды с помощью прямой или непрямой реакции иммунофлюоресценции. Ее используют также для идентификации выделенной культуры. Бруцеллы в острую фазу болезни выделяют из крови при посеве на питательный бульон. Кроме того, делают посевы пунктатов костного мозга и лимфатического узла, а также стерильно взятой мочи. Выделенную культуру идентифицируют по типичной морфологии бактерий и колоний, положительной реакции агглютинации на стекле с поливалентной бруцеллезной сывороткой. Для видовой идентификации используют признаки видов и биоваров бруцелл. Серодиагностику проводят в развернутой реакции агглютинации (р. Райта) и пластинчатой реакции агглютинации (р. Хедльсона), реже ставят РНГА, а также р. Кумбса для выявления неполных антител. Кожно-аллергическую пробу (по Бюрне) применяют для выявления ГЗТ к бруцеллам. Положительная реакция наблюдается как у больных, так и у привитых живой бруцеллезной вакциной (схема 20.12).

Профилактика и лечение. В России проводится вакцино-профилактика бруцеллеза живой вакциной. Для предупреждения рецидивов применяют специфический иммуноглобулин, а также инактивированную вакцину. Для выявления ГЗТ используют бруцеллин-фильтрат убитой нагреванием бульонной культуры бруцелл. В качестве этиотропных химиотерапевтических препаратов используют антибиотики широкого спектра действия.

20.6.4. Франциселла туляремии

Названы в честь Е. Франциса. Второе название дано по наименованию района Туляре в США, где в 1912 г. был выделен возбудитель туляремии — Francisella tularensis. К данному роду относится большое количество бактерий, патогенность которых для человека не установлена.

Морфология и физиология. F. tularensis представляют собой мелкие грамотрицательные коккобактерии, не образующие ни спор, ни жгутиков. Окружены мало выраженной капсулой (*рис. 20.29 на цв. вкладке*). Аэробы, требовательные к питательному субстрату. Культивируют на питательных средах, содержащих цистеин, яичный желток, либо на кровяном агаре с цистеином и глюкозой. Бактерии туляремии образуют небольшие колонии беловатого цвета. На жидких средах растут на поверхности среды. Ферментируют глюкозу, мальтозу и другие сахара с образованием кислоты. Некоторые штаммы ферментируют глицерин, что используется для дифференциации этих бактерий.



С х е м а 20.12. Микробиологические исследования при бруцеллезе

Антигены. Содержат Vi-антигены и O-антигены, связанные с клеточной стенкой.

Патогенность и патогенез. Факторы вирулентности у франциселл туляремии примерно такие же, как и у ряда других грамотрицательных бактерий, в частности бруцелл. Адгезия происходит на эпителиальных клетках респираторного и кишечного трактов за счет капсулы и белков наружной мембраны клеточной стенки. Они обладают высокой инвазивностью, о чем свидетельствует их способность проникать в организм через неповрежденную кожу и слизистые оболочки глаз, носоглотки, гортани, пищеварительного тракта. Далее они проникают в лимфоциты региональных лимфоузлов, где размножаются и попадают в кровяное русло, вызывая состояние бактериемии. Токсичность этих бактерий связана с освобождением эндотоксина (ЛПС) при их разрушении.

Иммунитет. При туляремии наблюдается клеточный и гуморальный иммунный ответ. Первый приводит к развитию ГЗТ, которая появляется в начале заболевания и сохраняется в течение многих лет. Антитела обусловливают напряженный гуморальный иммунитет.

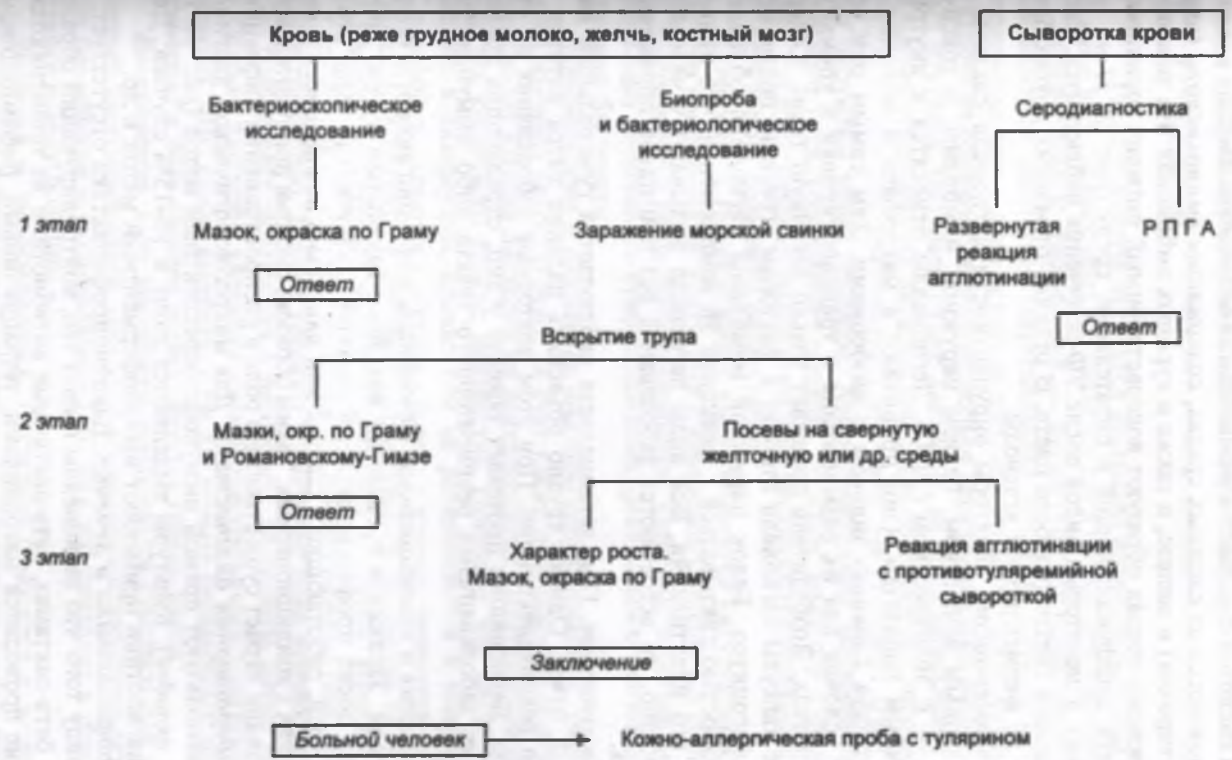
Экология и эпидемиология. Туляремия — природно-очаговая зоонозная инфекция. Естественные хозяева возбудителя туляремии — грызуны (водяные крысы (ондатры), полевки, домовые мыши и др.). Туляремия зарегистрирована у многих видов диких животных. Заражение людей происходит при прямом контакте с больными животными и их трупами, а также через объекты внешней среды (вода, пищевые продукты и др.),инфицированные грызунами. В воде и зараженных продуктах возбудитель сохраняет свою жизнеспособность в течение длительного срока. Возможно заражение трансмиссивным путем при укусах кровососущими членистоногими (комары, клещи, слепни).

Лабораторная диагностика. Наиболее распространенный метод — постановка кожно-аллергической пробы с тулярином, полученным из бактерий туляремии. Бактериологическое исследование проводится только в режимных лабораториях из-за опасности самозараження (схема 20.13).

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика туляремии проводилась живой вакциной Гайского–Эльберта, получение которой явилось в свое время большим достижением советских ученых. Для лечения применяют антибиотики широкого спектра действия.

20.6.5. Легионеллы

Род Legionella, включает 9 видов, представленных грамотрицательными бактериями, размеры которых колеблются в широких пределах. Для человека патогенен один вид — L. pneumophilia (*рис. 20.30 на цв. вкладке*).



С х е м а 20.13. Микробиологические исследования при туляремии

Морфология и физиология. Спор и капсул не образуют, имеют один или два жгутика. В клеточной стенке наряду с диаминопимелиновой кислотой содержатся значительные количества жирных кислот. Размножаются на сложных средах, содержащих аминокислоты (цистеин, тирозин) и железо, а также в куриных эмбрионах. На тирозинсодержащих средах образуют водорастворимый пигмент коричневого цвета, диффундирующий в питательную среду (*рис. 20.31 на цв. вкладке*). У некоторых видов после УФ-облучения наблюдается флюоресценция светло-голубого цвета. В отличие от многих других бактерий не ферментируют углеводы.

Патогенность. Факторы вирулентности легионелл связаны с капсулярным веществом, белком наружной мембраны, а токсичность — с эндотоксином (ЛПС). Легионеллы относятся к внутриклеточным паразитам. Они проникают в макрофаги и моноциты, препятствуя слиянию эндосом с лизосомами. Тем самым они создают условия для их размножения и транспортировки в упомянутых клетках. Возбудитель поражает только легочную ткань. Содержимое капсулы легионелл относят к факторам агрессии, подавляющим фагоцитоз. Белок наружной мембраны легионелл обладает способностью связываться с фракцией 3b комплемента, что приводит к его инактивации. Все виды легионелл вызывают у человека пневмонию, но встречаются заболевания без признаков поражения легких.

Иммунитет. При легионеллезе наблюдается гуморальный иммунный ответ. Однако трудно объяснить падение титра антител в период реконвалесценции. При этом повторные заболевания не отмечены. Легионеллез протекает тяжелее у лиц, страдающих хроническими заболеваниями респираторного тракта либо иммунодефицитом.

Экология и эпидемиология. Источником инфекции являются больные люди. Заражение происходит воздушно-капельным путем. Заболевание носит профессиональный характер. Значительно чаще страдают люди, работающие в шахтах или длительно находящиеся в помещениях с кондиционерами. Таким образом, система принудительной вентиляции играет существенную роль в распространении инфекции.

Лабораторная диагностика. Для микробиологической диагностики используют прямой иммунофлюоресцентный метод (*рис. 20.32 на цв. вкладке*). Культуры выделяются лишь в 10–15% случаев. Для серодиагностики применяют иммуноферментный метод и др.

Профилактика и лечение. Вакцинопрофилактика отсутствует.

Ввиду того что легионеллы имеют ген, контролирующий образование бета-лактамаз, бета-лактамные антибиотики не применяются. Лечение проводится макролидами, тетрациклинами, рифампицином, фторхинолоном.

20.7. ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ НЕСПОРООБРАЗУЮЩИЕ ПАЛОЧКИ

20.7.1. Листерии

К роду Listeria относятся несколько видов, из которых только один вид L.monocytogenes является патогенным для человека.

Морфология и физиология. L. monocytogenes представляют собой короткие палочки с закругленными концами, располагающиеся поодиночке или в виде коротких цепочек. Грамположительные, спор и капсул не образуют, имеют несколько перитрихиально расположенных жгутиков. Факультативные анаэробы, не требовательные к питательному субстрату. На питательном агаре образуют полупрозрачные колонии с голубовато-сероватым оттенком. На кровяном агаре колонии окружены зоной гемолиза. Хемоорганотрофы, метаболизм бродильного типа, сбраживают глюкозу, сахарозу, мальтозу с образованием кислоты, каталазоположительные, оксидазоотрицательные. Протеолитические ферменты отсутствуют.

Антигены. L.monocytogenes имеет Н-антиген (жгутиковый) и О-антиген соматический, связанный с клеточной стенкой. По Н-антигену подразделены на несколько сероваров. Описаны перекрестно-реагирующие антигены со стафилококками, фекальным стрептококком и другими бактериями.

Патогенность и патогенез. Факторы вирулентности L. monocytogenes изучены недостаточно. За счет каких поверхностных структур происходит адгезия листерий на эпителиоцитах дыхательного и энтероцитах кишечного тракта, неизвестно. Показано, что листерии попадают в лимфоузлы, однако они не размножаются в макрофагах. С лимфой попадают в кровяное русло и с кровью заносятся в паренхиматозные органы, в которых размножаются. В местах поражения образуется милиарный узелок с некрозом в центре. Интоксикация происходит за счет продуцирования мембранотоксина с гемолитической активностью. Другие токсины у листерий пока неизвестны. Какую роль играет эндотоксин в патогенезе листериоза также неясно, поскольку листерии являются грамположительными бактериями, у которых ЛПС слабо выражен. При листериозе беременных женщин примерно в 80% случаев регистрируется гибель плода.

Иммунитет. При листериозе наблюдается гуморальный и клеточный иммунный ответ. При этом происходит стимуляция активности макрофагов и формирование ГЗТ. Все это приводит к благоприятному исходу болезни.

Экология и эпидемиология. Листериоз относится к зоонозным заболеваниям с природной очаговостью. Заражение людей происходит алиментарным путем при употреблении зараженной воды и пи-

щевых продуктов. Возможен контактный путь при уходе за животными и воздушно-капельный путь заражения. Листерии длительно (несколько лет) сохраняются при низких температурах в почве и воде.

Лабораторная диагностика. Проводится главным образом путем выделения чистой культуры возбудителя и ее идентификации. Серодиагностика имеет не меньшее значение. Аллергию выявляют при постановке кожно-аллергических проб.

Профилактика и лечение. Вакцинопрофилактика не разработана. Для лечения применяют антибиотики (пенициллин и др.).

20.7.2. Коринебактерии

Род Corynebacterium объединяет около десятка видов, из которых только один C. diphtheriae является патогенным для человека. Остальные виды — C. pseudodiphtheriae, C. xerosis, C. ulcerans, C. pyogenes, C. haemolyticum и др. — относят к условно-патогенным и сапрофитическим. Бактерии рода Corynebacterium имеют характерную форму небольших палочек с булавовидными утолщениями на концах. Это объясняется расположенными в них метахроматическими включениями — зернами волютина, которые являются запасами полифосфатов. Они превышают поперечный размер клеток и поэтому придают ей булавовидную форму. Кроме волютина в цитоплазме коринебактерий могут содержаться частицы крахмала и липидов. Все коринебактерии являются грамположительными, неподвижными, не образующими спор и выраженных капсул.

20.7.2.1. Коринебактерии дифтерии

Впервые описана Э. Клебсом в 1983 г. и выделена Ф. Леффлером в 1984 г.

Морфология и физиология. Коринебактерии дифтерии имеют характерную для всего рода форму. Они располагаются под углом друг к другу в виде римских пятерок. Зерна волютина выявляются при окраске уксуснокислой синькой по методу Нейссера, которая окрашивает только включения, не затрагивая цитоплазму (*рис. 20.33 на цв. вкладке*). Дифтерийная палочка окружена микрокапсулой и имеет пили. C. diphtheriae требовательны к питательному субстрату. Они нуждаются во многих аминокислотах, углеводах, минеральных солях. Обычно их культивируют на свернутой сыворотке крови и на кровяном агаре с теллуритом калия (*рис. 20.34 на цв. вкладке*). На последней среде образуют колонии двух типов: gravis — темно-серого цвета и mitis — черного цвета, которые отличаются друг от друга и по биохимическим признакам (табл. 20.35).

Антигены. C. diphtheriae содержат в микрокапсуле К-антиген, позволяющий дифференцировать их на сервары и групоспецифичес-

Таблица 20.12

Ферментативные свойства некоторых видов коринебактерий

Вид коринебактерий	Расщепление: с образованием кислоты: глюкозы	сахарозы	крахмала	цистеина с образованием H_2S	мочевины	Восстановление нитратов
C.diphtheriae						
gravis	+	–	+	+	–	+
mitis	+	–	–	+	–	+
C.pseudodiphtheriae (hofmani)	–	–	–	–	+	+
C.xerosis	+	+	–	–	+	+
C.ulcerans	+	–	+	+	+	–

Обозначения: «+» — наличие признака; «–» — отсутствие признака

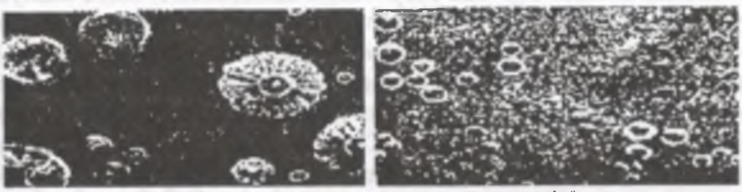


Рис. 20.35. Типы колоний C. diphtheriae на теллуритовой среде

кий полисахаридный антиген клеточной стенки, который дает перекрестные серологические реакции с микобактериями и нокардиями.

Патогенность и патогенез. Факторы вирулентности дифтерийных бактерий — пили и микрокапсула, с помощью которых они прикрепляются к эпителиоцитам миндалин, реже гортани, трахеи, полости носа, конъюнктивы глаза, вульвы. Затем происходит колонизация эпителиоцитов, что сопровождается возникновением воспалительного процесса. Токсичность связана с секрецией гистотоксина, который состоит из двух субъединиц: токсического полипептида и транспортного полипептида, ответственного за доставку токсического компонента к клеткам-«мишеням». Образование первого контролируется бактериальными генами, второго — генами фага, лизогенизировавшего бактериальную клетку. Это свидетельствует о том, что только лизогенные клетки C. diphtheriae могут секретировать гистотоксин.

Фиксация гистотоксина происходит на рецепторах мембран мышечных клеток сердца, паренхимы сердца, почек, надпочечников, нервных ганглиев. При этом блокируется синтез белка на рибосомах, что, в конечном итоге, приводит к гибели клеток. При дифтерии, как правило, отсутствует бактериемия и септицемия в связи с локализацией C. diphtheriae в клетках гортани, где развивается фибринозно-некротическое воспаление с образованием пленок, лимфаденита и отеков, что может привести к асфиксии. Кроме дифтерии гортани C. diphtheriae вызывает дифтерию раневых поверхностей и половых органов. К дифтериеподобным коринебактериям относятся следующие: C. xerosis вызывает хронические конъюнктивиты, C. ulcerans — легкие формы дифтериеподобных заболеваний, C. pyogenes и C. haemolyticum — язвенно-некротические фарингиты, тонзиллиты, гингивостоматиты. C. pseudodyphtheriae является постоянным обитателем кожи и слизистых.

Иммунитет. Напряженность постинфекционного иммунитета при дифтерии обусловлена высоким уровнем антитоксина в сыворотке крови. Образующиеся при дифтерии антибактериальные антитела — агглютинины, преципитины и другие — не обладают протективными свойствами. О наличии или отсутствии антитоксического иммунитета судят по реакции Шика — нейтрализации токсина антитоксином. При введении $^{1}/_{40}$ DLM дифтерийного токсина в кожу предплечья появляется покраснение и припухание в случае отсутствия антитоксина в крови. При наличии антитоксина реакция Шика отрицательная.

Экология и эпидемиология. Средой обитания для C. diphtheriae являются люди, в зеве которых они локализуются. Главным образом дифтерией болеют дети. Однако за последние 30 лет дифтерия «повзрослела». У взрослых дифтерия протекает тяжело и может закончиться летальным исходом. В окружающей среде бактерии дифтерии сохраняют жизнеспособность в течение нескольких дней, поскольку они переносят высушивание. Заражение происходит воздушно-капельным и реже контактным путем.

Лабораторная диагностика. На первом этапе приготавливают мазки из зева, которые окрашивают по Граму и Нейссеру. Число положительных результатов возрастает, если мазки делают с сывороточных тампонов, подращенных при 37°C 3 ч. Наиболее информативные результаты дает бактериологический метод. Материал тампоном засевают на свернутую сыворотку и теллуритовые среды (схема 20.14).

Специфическая профилактика и лечение. Вакцинопрофилактика дифтерии проводится при введении дифтерийного анатоксина, полученного при обработке дифтерийного токсина формалином. В нашей стране для вакцинации используют АКДС — адсорбированную коклюшно-дифтерийно-столбнячную вакцину. Антитокси-

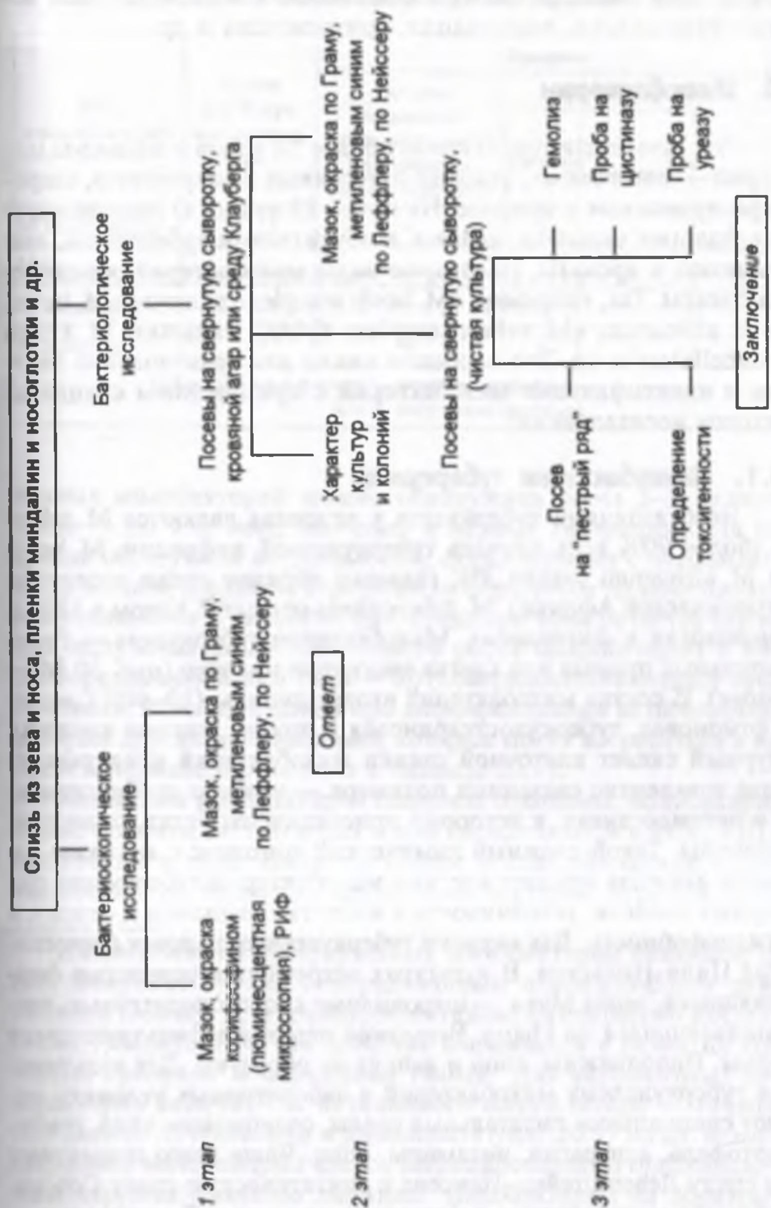


Схема 20.14. Микробиологические исследования при дифтерии

ческую сыворотку применяют для специфической терапии, а антибиотики — для санации бактерионосителей. Из антибиотиков используют пенициллин, ванкомицин, эритромицин и др.

20.7.3. Микобактерии

Род Mycobacterium включает более 50 видов и подвидов микобактерий — патогенных, условно-патогенных и сапрофитов, широко распространенных в природе. Не менее 25 из них играют важную роль в патологии человека, являясь возбудителями туберкулеза, микобактериозов и проказы. Некоторые виды микобактерий объединены в комплексы. Так, например, «M. bovis complex» включает M. bovis, BCG и M. africanum; «M. avium complex» (MAC) включает M. avium и M. intracellulare и т.д. Это особенно важно для практической диагностики и идентификации микобактерий с применением специальных методов исследования.

20.7.3.1. Микобактерии туберкулеза

Возбудителями туберкулеза у человека являются M. tuberculosis (более 90% всех случаев туберкулезной инфекции, M. bovis (5%) и M. africanum (около 3%, главным образом среди населения стран тропической Африки). M. tuberculosis открыт Р. Кохом в 1882 г.

Морфология и физиология. Микобактерии туберкулеза — грамположительные прямые или слегка изогнутые палочки (*рис. 20.36 на цв. вкладке*). В состав микобактерий входят липиды (10–40%), миколовая, фтионовая, туберкулостеариновая и другие жирные кислоты. Структурный скелет клеточной стенки микобактерий представляет собой два ковалентно связанных полимера — миколат арабиногалактазана и пептидогликан, к которому присоединены белки, полисахариды, липиды. Такой сложный химический комплекс с высоким содержанием липидов придает клеткам микобактерий туберкулеза ряд характерных свойств: устойчивость к кислотам, щелочам и спирту, а также гидрофобность. Для окраски туберкулезных палочек применяют метод Циля–Нильсена. В культурах встречаются зернистые формы, ветвящиеся, зерна Муха — шаровидные кислотоподатливые, легко окрашивающиеся по Граму. Возможен переход в фильтрующиеся и L-формы. Неподвижны, спор и капсул не образуют. Для культивирования туберкулезных микобактерий в лабораторных условиях используют специальные питательные среды, содержащие яйца, глицерин, картофель, аспарагин, витамины, соли. Чаще всего применяют яичную среду Левенштейна–Йенсена и синтетическую среду Сотона. Размножаются микобактерии туберкулеза медленно. В оптимальных условиях время генерации составляет около 15 ч, тогда как бактерии многих других родов делятся через каждые 20–30 мин. Рост туберку-

Таблица 20.13

Дифференциальные признаки некоторых микобактерий

Вид микробактерий	Время роста при выделении, сут.	Признак				Восстановление нитратов
		потеря каталазной активности после прогревания 30 мин. при 68°С	наличие ферментов			
			уреазы	никотинамидазы	ниацинназы	
M.tuberculosis	12–15	+	+	+	+	+
M.bovis	24–40	+	+	–	–	–
M.africanum	31–42	+	+	+	–	-
M.smegmatis	3–5	+	+	+	–	+
Обозначения: «+» — наличие признака; «–» — отсутствие признака						

лезных микобактерий можно обнаружить через 2–3 недели и позднее — до 2–3 мес., особенно в первых генерациях. На плотных средах образуются морщинистые, сухие колонии с неровными краями; в жидких средах на поверхности образуется нежная пленка, которая утолщается и падает на дно, среда при этом остается прозрачной. Для получения более гомогенного роста микобактерий к питательным средам добавляют твин — 80 (поверхностно-активное вещество). Признаки, использующиеся при дифференциации M.tuberculosis от некоторых других микобактерий, которые могут встретиться в исследуемом материале, приведены в таблице 20.13.

Антигены микобактерий содержат протеины, полисахариды, липиды, фосфатиды. Антитела к ним определяются в РСК, РНГА, преципитации в геле. Имеются общие и специфические антигены у M. tuberculosis, M. bovis и других микобактерий, включая сапрофитические виды.

Патогенность туберкулезных микобактерий связана с прямым или иммунологически опосредованным повреждающим действием липидов (воском Д, мураминдипептидом, фтионовыми кислотами), а также туберкулином. Их действие выражается в развитии специфических гранулем и поражении тканей. Для вирулентных штаммов характерно наличие так называемого корд-фактора — гликолипида, состоящего из трегалозы и димиколата (*рис. 20.37 на цв. вкладке*). Он разрушает митохондрии клеток инфицированного организма, тем самым нарушая функцию дыхания. Микобактерии не образуют экзотоксин.

Патогенез. В зоне проникновения и размножения микобактерий возникает специфический воспалительный очаг — инфекционная

гранулема (первичный эффект). Затем развивается специфический воспалительный процесс в региональных лимфатических узлах и наблюдается сенсибилизация организма. Таким образом, формируется так называемый первичный туберкулезный комплекс. В подавляющем большинстве случаев первичный очаг имеет доброкачественное течение. Он рассасывается, пораженный участок кальцинируется и рубцуется. Однако этот процесс не завершается полным освобождением организма от возбудителя. В первичном очаге и лимфатических узлах туберкулезные бактерии могут сохраняться многие годы, иногда в течение всей жизни. Такие люди, оставаясь инфицированными, приобретают иммунитет к туберкулезу. При неблагоприятных заболеваниях, особенно на фоне плохих социальных факторов (недостаточное и неполноценное питание, неудовлетворительные жилищные условия, сопутствующие заболевания) может наступить активация возбудителя и генерализация процесса. Наиболее часто встречается туберкулез легких. Генерализация инфекции приводит к развитию внелегочных форм туберкулеза: кожи, костей и суставов, почек и других органов. Локализация процесса в определенной степени зависит от путей проникновения микобактерий в организм человека и вида возбудителя. Патогенетически важным является действие на организм инфицированного человека туберкулина. Впервые это вещество получил Р. Кох в 1890 г., а изученный им препарат был назван «старый туберкулин». Очищенный от примесей туберкулин (PPD — очищенный протеиновый дериват) является белком. Внутрикожное введение туберкулина вызывает у инфицированных микобактериями людей местную воспалительную реакцию в виде инфильтрата и покраснения (реакция Манту) (*рис. 20.38 на цв. вкладке*). Неинфицированные люди никакой реакции на введение туберкулина не дают. Эту пробу применяют для выявления инфицированных, сенсибилизированных людей.

Иммунитет. При туберкулезе иммунитет формируется на фоне первичного инфицирования организма микобактериями, которые длительное время сохраняются в нем. Такая форма иммунитета называется нестерильным и выражается в устойчивости организма к суперинфекции. Кроме того, длительная персистенция микобактерий в организме связана с L-трансформацией возбудителя туберкулеза, а также с широким применением живой авирулентной вакцины BCG для вакцинации населения. При туберкулезе обнаруживаются антитела, относящиеся к разным классам иммуноглобулинов. Антитела можно выявить с помощью различных серологических реакций (РСК, РПГА и др.). Их значение в формировании противотуберкулезного иммунитета до сих пор остается неясным. Полагают, что антитела к микобактериям туберкулеза являются только «свидетелями» иммунитета, не оказывают ингибирующего действия на возбудителя и не

отражают его напряженности. Большое значение имеет клеточный иммунитет. Показатели его изменений, если судить о них по реакции бласт-трансформации лимфоцитов, цитотоксическому действию лимфоцитов на клетки-«мишени», содержащие антигены микобактерий, выраженности реакции торможения миграции макрофагов адекватны течению болезни. Т-лимфоциты после контакта с антигенами микобактерий продуцируют иммуноцитокины, усиливающие фагоцитарную активность макрофагов. При подавлении функции Т-лимфоцитов туберкулезный процесс протекает в более тяжелой форме. Фагоцитоз при туберкулезе носит незавершенный характер, поскольку микобактерии могут размножаться в макрофагах и частично их разрушают. Сохранение живых микобактерий в тканях обеспечивает повышенную сопротивляемость к суперинфекции, а также «иммунологическую память». Важное значение в формировании иммунитета при туберкулезе имеет аллергия, которая развивается по типу ГЗТ. Защитная роль ГЗТ проявляется в ограничении размножения микобактерий, фиксации их в очагах инфекции, образовании инфекционных гранулем при участии Т-лимфоцитов, макрофагов и других клеток.

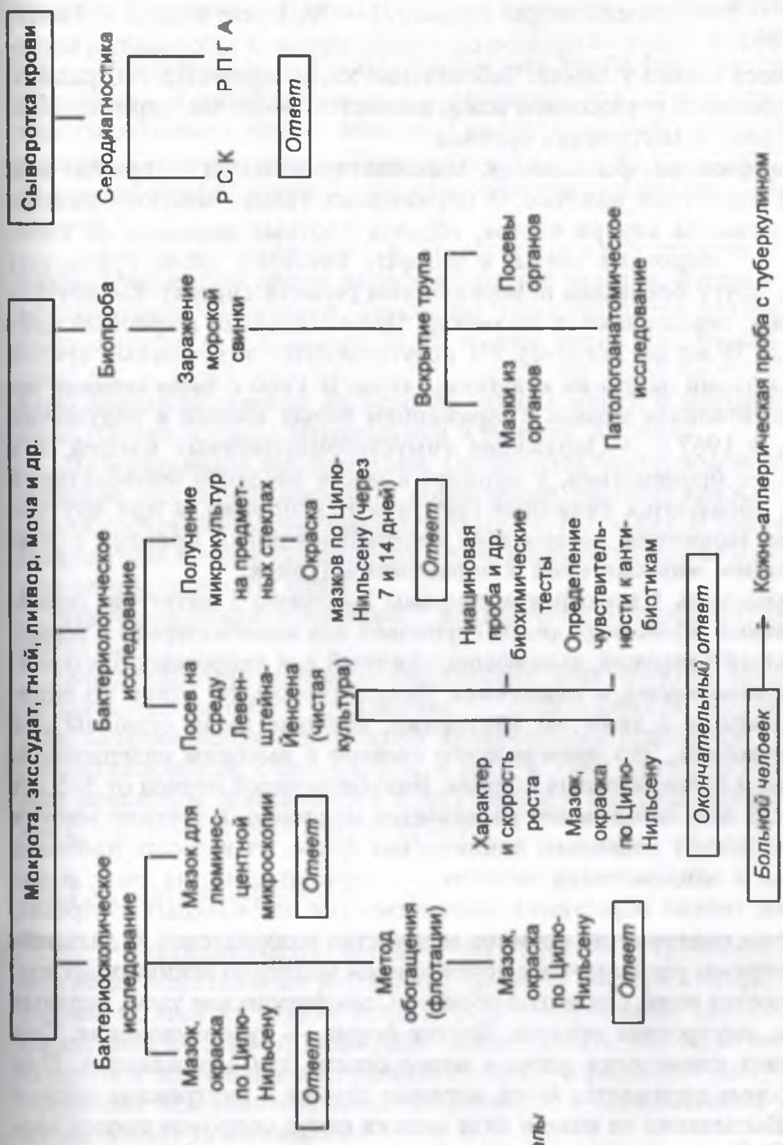
Экология и эпидемиология. В естественных условиях M. tuberculosis обитают в организме своих хозяев — людей и некоторых животных (крупный рогатый скот, свиньи). M. africanum вызывает туберкулез у людей в странах тропической Африки. Таким образом, источником инфекции являются больные люди и животные. При активно протекающем туберкулезе с наличием воспалительно-деструктивных изменений они выделяют микобактерии в окружающую среду. Более 80% населения инфицируется туберкулезными микобактериями в раннем возрасте. Наиболее распространен воздушно-капельный путь заражения, при котором возбудитель проникает в организм через верхние дыхательные пути, иногда через слизистые оболочки пищеварительного тракта или через поврежденную кожу. Попадая в окружающую среду, микобактерии туберкулеза длительное время сохраняют свою жизнеспособность. Так, в высохшей мокроте они выживают в течение нескольких недель, на предметах, окружающих больного (белье, книги) — более 3 мес., в воде — более года, в почве — до 6 мес., длительно сохраняются в молочных продуктах. К действию дезинфицирующих веществ микобактерии туберкулеза более устойчивы, чем другие бактерии, требуются более высокие концентрации и более длительное время воздействия для их уничтожения. При кипячении погибают мгновенно, чувствительны к воздействию прямого солнечного света.

Лабораторная диагностика туберкулеза проводится бактериоскопическим, бактериологическим и биологическим методами. В исследуемом материале обнаруживают микобактерии туберкулеза путем микроскопии мазков, окрашенных по Цилю–Нильсену и с примене-

нием люминесцентных красителей (чаще всего аурамина). Бактериоскопию рассматривают как ориентировочный метод. Бактериологический метод является основным в лабораторной диагностике туберкулеза. Посевы делают на среду Левенштейна–Йенсена и инкубируют при 37°С в термостате в течение 3 мес. Выделенные культуры идентифицируют и определяют их чувствительность к химиотерапевтическим препаратам. Для ускоренного обнаружения микобактерий делают посевы по методу Прайса, позволяющего получить микрокультуры туберкулезных бактерий и определить наличие корд-фактора, когда микобактерии располагаются в форме кос и жгутов (рис. 20.37). В некоторых случаях, например, при туберкулезе почек, прибегают к биологической пробе — заражению морских свинок с последующим выделением чистой культуры. Кожно-аллергические туберкулиновые пробы (реакция Манту) ставят с целью выявления лиц, инфицированных туберкулезными микобактериями, для оценки течения туберкулезного процесса у больных, а также для контроля эффективности вакцинации и отбора лиц для ревакцинации BCG (схема 20.15).

В последние годы большое внимание уделяется новым методам диагностики туберкулеза — цепной полимеразной реакции (ЦПР) и др.

Профилактика и лечение. Для специфической профилактики используют живую вакцину БЦЖ — BCG (Bacille Calmette–Guerin). Штамм BCG был селекционирован А. Кальметтом и Ш.Гереном путем длительного пассирования туберкулезных бактерий бычьего типа (M.bovis) на картофельно-глицериновой среде с добавлением желчи. Ими было сделано 230 пересевов в течение 13 лет и выделен мутант со сниженной вирулентностью. В нашей стране вакцинируются против туберкулеза все новорожденные на 5–7-й день жизни. Ревакцинацию проводят лицам с отрицательной туберкулиновой пробой с интервалом в 5–7 лет до 30-летнего возраста. Тем самым создается инфекционный иммунитет с гиперчувствительностью замедленного типа. Для лечения туберкулеза применяют антибиотики и химиотерапевтические препараты, к которым чувствительны возбудители. Это препараты I ряда: дегидрострептомицин, ПАСК и ГИНК (гидразиды изоникотиновой кислоты — изониазид, тубазид, фтивазид) и II ряда: этионамид, циклосерин, канамицин и др. В связи с распространением в настоящее время лекарственно-резистентных штаммов туберкулезных микобактерий Международный союз борьбы с туберкулезом предложил новую классификацию противотуберкулезных препаратов: I ряда — наиболее эффективные (изониазид и рифампицин), II ряда — препараты средней эффективности (этамбутол, стрептомицин, этионамид, пиразинамид, канамицин, циклосерин), III ряда — малые противотуберкулезные препараты (ПАСК и тибон). В комплексе лечебных мероприятий используется десенсибилизирующая терапия и стимуляция естественных защитных механизмов организма.



С х е м а 20.15. Микробиологические исследования при туберкулезе

20.7.3.2. Микобактерии лепры

Возбудитель лепры (проказы) — M. leprae описан Г. Гансеном в 1973 г. Лепра — хроническое инфекционное заболевание, встречающееся только у людей. Заболевание характеризуется генерализацией процесса, поражением кожи, слизистых оболочек, периферических нервов и внутренних органов.

Морфология, физиология. Микобактерии лепры — прямые или слегка изогнутые палочки. В пораженных тканях микроорганизмы располагаются внутри клеток, образуя плотные шаровидные скопления — лепрозные шары, в которых бактерии тесно прилегают друг к другу боковыми поверхностями («пачка сигар»). Кислотоустойчивы, окрашиваются по методу Циля–Нильсена в красный цвет (*рис. 20.39 на цв. вкладке*). На искусственных питательных средах микобактерии лепры не культивируются. В 1960 г. была создана экспериментальная модель с заражением белых мышей в подушечки лапок, в 1967 г. — заражение тимусэктомированных мышей, а в 1971 г. — броненосцев, у которых в месте введения микобактерий лепры образуются типичные гранулемы (лепромы), а при внутривенном заражении развивается генерализованный процесс с размножением микобактерий в пораженных тканях.

Антигены. Из экстракта лепромы выделены 2 антигена: термостабильный полисахаридный (групповой для микобактерий) и термолабильный белковый, высокоспецифичный для лепрозных бактерий.

Патогенность и патогенез. Вирулентность M. leprae по-видимому связана с теми же факторами, которые были описаны для M. tuberculosis. Это прежде всего связано с высоким содержанием липидов в бактериальных клетках. Инкубационный период от 3–5 лет до 20–35 лет. Заболевание развивается медленно, в течение многих лет. Различают несколько клинических форм, из которых наиболее тяжелая и эпидемически опасная — лепроматозная: на лице, предплечьях, голени образуются множественные инфильтраты-лепромы, в которых содержится огромное количество возбудителей. В дальнейшем лепромы распадаются с образованием медленно заживающих язв. Поражаются кожа, слизистые оболочки, лимфатические узлы, нервные стволы, внутренние органы. Другая форма — туберкулоидная. Она протекает клинически легче и менее опасна для окружающих. При этой форме поражается кожа, нервные стволы и внутренние органы реже. Высыпания на коже в виде мелких папул сопровождаются анестезией. В очагах поражений возбудители обнаруживаются в незначительном количестве.

Иммунитет. По мере развития болезни снижается число и активность Т-лимфоцитов и как следствие утрачивается способность реагировать на антигены микобактерий лепры. Реакция Мицуды на

введение в кожу лепромина у больных лепроматозной формой, протекающей на фоне глубокого угнетения клеточного иммунитета, отрицательная. У здоровых лиц и у больных туберкулоидной формой лепры — положительная. Таким образом, эта проба отражает тяжесть поражения Т-лимфоцитов и используется как прогностическая, характеризующая эффект лечения. Гуморальный иммунитет не нарушается. В крови больных обнаруживаются в высоких титрах антитела к микобактериям лепры, но они не обладают протективными свойствами.

Экология и эпидемиология. Естественным резервуаром и источником возбудителя лепры является больной человек. Лепра — малоконтагиозное заболевание. Заражение происходит при длительном и тесном контакте с больным. В настоящее время по данным ВОЗ в мире около 10–12 млн. больных проказой. Заболевание распространено преимущественно по берегам южных морей и больших водоемов (Индия, страны Центральной и Южной Африки).

Лабораторная диагностика. Проводится бактериоскопическим методом. Исследуют соскобы с пораженных участков кожи и слизистых оболочек. Мазки окрашивают по Цилю–Нильсену. В положительных случаях обнаруживают характерно располагающиеся микобактерии лепры типичной формы.

Профилактика и лечение. Специфической профилактики лепры нет.

Комплекс лечебно-профилактических мероприятий проводят в специализированных учреждениях — лепрозориях и амбулаториях. Для лечения лепры применяют сульфоновые препараты (дапсон, диацетилсульфон, селюсульфон и др.), а таже противотуберкулезные препараты (рифампицин и др.) вместе с десенсибилизирующими средствами и биостимуляторами.

20.7.4. Актиномицеты

Актиномицеты (*myces* — гриб, *actis* — луч) относят к группе грамположительных неспорообразующих бактерий неправильной формы. К этой же группе относят нокардиоформные актиномицеты (нокардии). Отдельные виды рода Actinomyces (A. israelli, A. naeslundii, A. bovis и др.) являются представителями нормальной микрофлоры организма человека или животных, которые в определенных условиях вызывают актиномикозы.

Морфология и физиология. Тонкие прямые или слегка изогнутые палочки и нити с настоящим ветвлением. Короткие палочки часто с булавовидными концами, напоминающие коринебактерии. Типичны разветвленные палочки с ветвящимися нитями на концах. Грамположительные, неподвижные, неспорообразующие, некислотоустойчивые.

Конидий не образуют в отличие от грибов. Факультативные анаэробы, нуждаются в дополнительном снабжении CO_2 Хемоорганотрофы с бродильным типом метаболизма. При сбраживании углеводов образуют кислоту. На плотных средах через 24 ч формируют характерные для отдельных видов микроколонии, а через 7–14 дней — макроколонии. Ферментируют глюкозу с образованием кислоты, обладают слабой протеолитической активностью.

Антигены. В составе клеточных стенок содержатся неидентичные видоспецифические антигены, что дает возможность разделить их на 5 серогрупп. A. israelii относится к серогруппе D, A. naeslundii — к серогруппе A, A. bovis — к серогруппе D. Каждая серогруппа подразделена на серовары.

Патогенность и патогенез. Факторы вирулентности и токсины актиномицетов, встречающихся в патологии человека и животных, изучены недостаточно. Возбудитель локализуется на эпителиальных клетках слизистой оболочки полости рта и других полостей и органов, а также клетках кожи, где образуются воспалительные очаги — *актиномикомы* — в случае иммунодефицитных состояний. В актиномикомах обнаруживаются *друзы актиномицетов* (*рис. 20.40 на цв. вкладке*). Из первичного очага возбудитель распространяется в организме либо контактным, либо лимфогенным путем. Бактериемия отсутствует. Вторичные очаги инфекции могут образоваться в разных органах (легкие, печень и др.). К основному заболеванию часто присоединяется вторичная бактериальная инфекция.

Иммунитет. Постинфекционный иммунитет характеризуется слабой напряженностью. В сыворотке крови обнаруживаются противомикробные антитела, которые не обладают протективными свойствами. Отмечается формирование ГЗТ.

Экология и эпидемиология. Актиномикоз относится к антропонозным инфекциям. Однако актиномицеты, поражающие многих животных (крупный и мелкий рогатый скот, свиньи и др.), в частности, A.bovis, по мнению некоторых авторов, могут вызывать заболевание у людей. Полагают, что болезнь возникает эндогенным путем, поскольку A.israelii обнаруживается в полости рта здоровых людей. Экзогенная инфекция также имеет место при заражении людей аэрозольным путем из внешней среды. Показано, что актиномицеты не только сохраняют свою жизнеспособность, но и размножаются в окружающей среде.

Лабораторная диагностика. Из исследуемого материала (гной, мокрота и др.) готовят мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют. Обнаружение друз (*см. рис. 20.40*), представляющих собой зерна с гомогенным центром и колбовидными вздутиями по периферии свидетельствует о заболевании актиномикозом. При бактериологическом исследовании получают чистую культуру возбудителя на кровя-

ном агаре с экстрактом сердечной мышцы и идентифицируют на основании описанных выше признаков. Серодиагностику проводят в РСК с антигеном — поливалентным актинолизатом. Положительная реакция регистрируется у 80% больных. Кожно-аллергическую пробу ставят путем внутрикожного введения экстракта из актиномицетов.

Профилактика и лечение. Вакцины против актиномикоза отсутствуют. Для лечения используют антибиотики (пенициллин, хлорамфеникол и др.).

20.7.4.1. Нокардии

Род Nocardia относится к группе нокардиоформных актиномицетов, подгруппе бактерий, содержащих миколовые кислоты. Род Nocardia включает свыше 10 видов, из которых N. asteroides и N. farcinica могут вызывать заболевания у людей.

Морфология и физиология. Клетки нокардий представлены вегетативными гифами, растущими на поверхности и проникающими внутрь агаризованной среды. Гифы распадаются на бактероидные элементы от палочковидных до кокковидных. Окраска по Граму от положительной до вариабельной, частично кислотоустойчивые. Способны образовывать коричневый или желтый водорастворимый пигмент, окрашивающий питательную среду. В состав клеточной стенки входят миколовые кислоты.

Антигены. Антигенная структура нокардий изучена недостаточно.

Патогенность и патогенез. Факторы вирулентности мало исследованы. У людей и животных вызывают актиномицетную мицетому и нокардиоз. Нокардии проникают в организм аэрозольным путем. Первичный воспалительный очаг образуется в легких. Генерализация инфекции возникает на фоне иммунодефицита, в частности при снижении функциональной активности Т-лимфоцитов. Возбудитель распространяется гематогенным путем и локализуется в разных внутренних органах (почки, надпочечники, селезенка, печень), образуя очаги, напоминающие таковые при туберкулезе легких или при системных микозах. При генерализации процесса нередко возникают абсцессы мозга.

Иммунитет. Нокардии индуцируют гуморальный и клеточный иммунный ответ. В сыворотке крови появляются антибактериальные антитела (агглютинины, преципитины, связывающие комплемент). Однако их протективные свойства не выражены. Кроме того, развивается ГЗТ, что свидетельствует об образовании клеточного иммунитета.

Экология и эпидемиология. Нокардии широко распространены в природе. Средой обитания многих из них является почва. Заражение человека происходит аэрогенным путем с вдыхаемой пылью и, возможно, через поврежденную кожу и слизистые оболочки.

Лабораторная диагностика. Применяется бактериоскопическое и бактериологическое исследование, а также серодиагностика. Возможна постановка кожно-аллергических проб.

Специфическая профилактика и лечение. Вакцины отсутствуют. Для лечения применяют антибиотики (тетрациклины, аминогликозиды).

20.8. ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ ПАЛОЧКИ, ОБРАЗУЮЩИЕ ЭНДОСПОРЫ

К ним относятся ряд родов семейства Bacillaceae, из которых представители родов Bacillus и Clostridium встречаются в инфекционной патологии человека.

20.8.1. Бациллы сибирской язвы

Впервые описаны Полендером в 1849 г. и позднее исследованы Р. Кохом и Л. Пастером.

Морфология и физиология. Возбудитель сибирской язвы — B. anthracis — грамположительные крупные палочки с «обрубленными» концами, располагающиеся длинными цепочками (*рис. 20.41 на цв. вкладке*). Во внешней среде образуют споры (рис. 20.42), сохраняющиеся в почве в течение многих десятилетий. В организме людей и животных образуют белковую капсулу. На твердых средах формируют R-формы колоний. Обладает сахаролитическими и протеолитическими свойствами, разжижает желатину «елочкой» (рис. 20.43), что используется для идентификации данных бактерий.

Антигены. B.anthracis содержит два вида антигенов: групоспецифический соматический полисахаридный и видоспецифический капсульный антигены. Первый термостабилен, не разрушается при кипячении и длительно сохраняется во внешней среде. На этом свойстве основана реакция Асколи, имеющая важное практическое значение. Капсульный антиген в отличие от капсульных антигенов других бактерий является полипептидом, а не полисахаридом. Третий антиген, связанный с белковым токсином, называют протективным, поскольку к нему образуются антитела, обладающие протективными свойствами.

Патогенность и патогенез. К факторам вирулентности B. anthracis относятся прежде всего капсульный полипептид, который участвует в адгезии бактерий на чувствительных клетках макроорганизма, например, энтероцитах кишечника или эпителиоцитах респираторного тракта. Вместе с тем он обладает выраженным антифагоцитарным

Рис. 20.42. B. anthracis (формирование споры). ЭМ

Рис. 20.43. B. anthracis (разжижение желатина «елочкой»)

действием. Протеазы широкого спектра обеспечивают инвазию. Существенную роль в патогенезе всех форм сибирской язвы играет белковый токсин, который характеризуется как протективный антиген, летальный фактор и отечный фактор. О протективной активности свидетельствует выработка антител (антитоксинов). Летальный и отечный факторы по механизму действия можно отнести к цитотоксинам и функциональным блокаторам. В зависимости от входных ворот инфекции различают кожную, легочную и кишечную формы сибирской язвы. При кожной форме возбудитель проникает в глубокие слои дермы на границе подкожной клетчатки, вызывая образование специфического карбункула — очага геморрагическо-некротического воспаления. Возбудитель из места внедрения заносится макрофагами в регионарные лимфатические узлы, в которых развивается воспаление. При кожной форме в 1–2% случаев и значительно чаще при других формах развивается септицемия вследствие генерализации процесса.

Иммунитет. После перенесения сибирской язвы формируется напряженный гуморальный антитоксический иммунитет, в котором существенную роль играют антитела — антитоксины к протективному антигену — белковому токсину. Особое значение в иммунитете имеет Т-зависимая аллергия, проявляющаяся в ГЗТ.

Экология и эпидемиология. Сибирская язва — острая особо опасная инфекция преимущественно сельскохозяйственных животных и людей. По мнению одних ученых естественной средой обитания для сибиреязвенных бацилл является почва, в которой возбудитель размножается и длительное время сохраняется в виде спор. Инфицирование почвы происходит через выделения больных животных и захоронения их трупов. Другие считают, что почва является только хранилищем спор. Возбудитель передается людям через продукты, приготовленные из инфицированного материала, особенно мяса при уходе за больными животными, обработке животного сырья. В ряде случаев заражение происходит через кровососущих насекомых — слепней, мух-жигалок, аэрозольным путем (болезнь старьевщиков), а также при контактах со шкурками и кожей от больных животных.

Лабораторная диагностика. Наиболее достоверным является бактериологическое исследование,заканчивающееся выделением чистой культуры возбудителя и ее идентификацией с использованием теста «жемчужного ожерелья», которое появляется на питательном агаре с пенициллином вследствие превращения бактерий в протопласты. Для выявления зараженности сырья (меховых шкурок, кожи и т.д.) используют реакцию термопреципитации Асколи. Для определения зараженных животных используют кожно-аллергическую пробу (схема 20.16).

Профилактика и лечение. Для специфической профилактики сибирской язвы используют живую вакцину «СТИ», полученную отечественными учеными. Специфический противосибиреязвенный иммуноглобулин применяют для поздней профилактики и лечения данного заболевания. Из антибиотиков используют беталактамы, аминогликозиды, тетрациклины и другие препараты.

20.8.2. Клостридии

Всех анаэробов объединяет получение энергии путем субстратного фосфорилирования. По отношению к O_2 их подразделяют на три группы: а) строгие (облигатные) анаэробы, не переносящие O_2, б) умеренно строгие анаэробы. Выживают, но не размножаются в присутствии O_2, в) аэротолерантные. Размножаются как в отсутствие, так и в присутствии O_2. По ныне действующей классификации все анаэробы относятся к различным таксонам. В патологии человека наиболее существенное значение имеют:

1) спорообразующие грамположительные бактерии рода Clostridium — C. perfringens, C. novyi, C. histolyticum и др., возбудители анаэробной раневой инфекции: C. tetani — возбудитель столбняка и C. botulinum — возбудитель ботулизма;

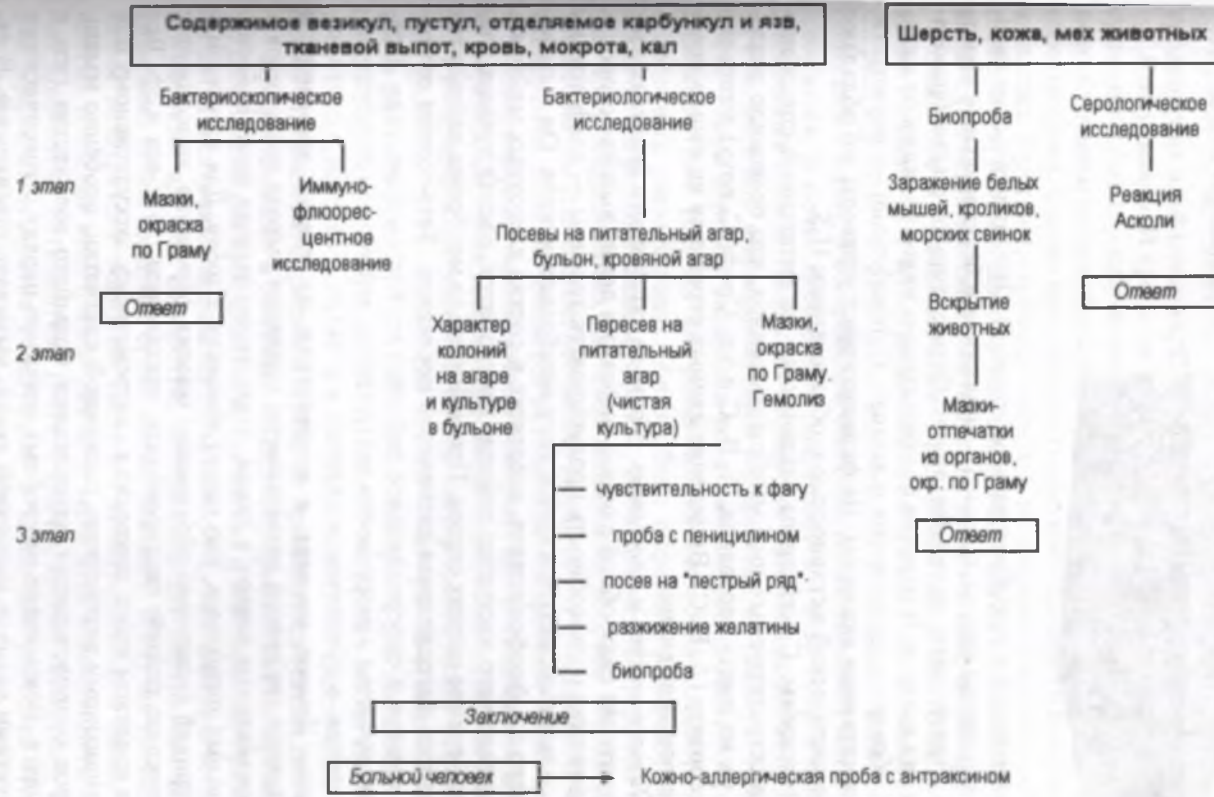
2) неспорообразующие грамотрицательные анаэробные бактерии родов Bacteroides, Fusobacterium и др.;

3) грамположительные неспорообразующие анаэробные кокки родов Peptococcus, Peptostreptococcus и др.;

4) анаэробные грамотрицательные кокки рода Veilonella.

20.8.2.1. Клостридии раневой анаэробной инфекции (газовой гангрены)

Морфология и физиология. C. perfringens — крупные, утолщенные грамположительные спорообразующие палочки (*рис. 20.44 на цв вкладке*, 20.45). Многие штаммы подвижны, in vivo образуют капсулу. На кровяном агаре окружены зоной гемолиза, на желточном агаре — зоной помутнения, что свидетельствует о наличии фермента лецитиназы. В столбике агара колонии имеют вид чечевичных зерен



С х е м а 20.16. Микробиологические исследования при сибирской язве

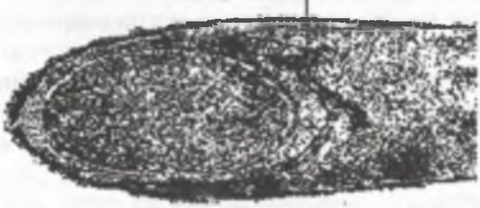


Рис. 20.45. C. perfringens. Формирование споры. ЭМ

Ферментируют с газообразованием углеводы. Протеолитические свойства выражены слабей. C. novyi — подвижные бескапсульные перитрихи. Эритроциты не гемолизируют. Ферментируют с газообразованием ряд сахаров. В отличие от предыдущих видов разжижают желатину, образуют сероводород и аммиак. C. histolyticum — перитрихи, факультативные анаэробы. Не ферментируют углеводы, но обладают протеолитической активностью с образованием H_2S.

Антигены. C.perfringens различаются по антигенной специфичности секретируемых ими мембранотоксинов, что позволило разделить их на шесть сероваров: А, В, С и т.д. Среди C. novyi выделено три серовара (А, В, С). Выделение данных сероваров не нашло практического применения.

Патогенность и патогенез. В основе патогенного действия всех возбудителей анаэробной раневой инфекции лежит высокая скорость размножения и способность продуцировать токсины — альфатоксин и др. Альфатоксин относится к типу мембранотоксинов. Он вызывает гидролиз фосфолипидов, входящих в состав клеточных мембран, вследствие чего наступает гемолиз эритроцитов, распад тучных клеток, изменение мелких ссудов. При действии на мембраны лейкоцитов снижается фагоцитарная активность последних. Тета-токсин оказывает прямое и опосредованное действие на клетки-«мишени». Первое заключается в разрушении эритроцитов, лейкоцитов эндотелиальных клеток, в обеспечении инвазии и участии в некрозе в очаге инфекции. Второе состоит в воздействии на клетки миокарда и нарушении сердечной деятельности, усилении выхода лейкоцитов и эндотелиальных клеток в ткани, стимуляции выхода противовоспалительных цитокинов, что может привести к шоку. Для патогенных клостридий характерно образование многих ферментов, вызывающих деструкцию тканей: гиалуронидаза, коллагеназа, ДНК-аза и др. Все это, в конечном итоге, приводит к гангренозному, экссудативному или флегмонозному воспалению подкожной клетчатки, особенно мышц, которое сопровождается накоплением большого количества газа и экссудата. Всасывание микробных токсинов наряду с токсическими продуктами распада мышечной ткани, вызывает токсинемию. В тяжелых случаях возможно развитие сепсиса. Существенное значение

в патогенезе имеет вторичная микрофлора: непатогенные клостридии, стафилококки и другие бактерии. Cl. perfringens может продуцировать энтеротоксин, вызывающий диффузный понос. Серовар A C. novyi продуцирует альфа-токсин, C. septicum — мембранотоксин.

Иммунитет. В процессе инфекции образуются антитоксины, что приводит к формированию антитоксического иммунитета. Он определяется уровнем антитоксина и противоферментативных антител в сыворотке крови. Однако напряженность постинфекционного иммунитета невысока. Противомикробные антитела не обладают протективными свойствами, чтобы препятствовать размножению клостридий. Образующийся антитоксический иммунитет не является напряженным.

Экология и эпидемиология. Средой обитания для клостридий является кишечник животных, особенно травоядных и свиней, для Cl. perfringens — и кишечник человека. С фекалиями клостридии попадают в почву, в которой при благоприятных условиях могут размножаться. В почве клостридии сохраняются в виде спор в течение длительных сроков. Инфекция передается при попадании возбудителя с почвой или инфицированным материалом на раневую поверхность. Таким образом, входными воротами инфекции являются раны. Благоприятные условия для размножения анаэробов создаются при осколочных рваных ранах. Анаэробная инфекция в мирное время встречается редко, главным образом, как осложнение открытой травмы, послеоперационных ран и криминальных абортов. Необрабатываемые почвы (скалистые, песчаные) в отличие от плодородных культивируемых почв, не являются источником анаэробной инфекции.

Лабораторная диагностика. Материал для исследования: кусочки пораженной ткани. Для бактериоскопического исследования используют иммунофлюоресцентный метод. Бактериологическое исследование проводят путем выделения чистой культуры на кровяном агаре, среде Вильсон–Блера и др. Используют биопробы для выявления токсина в исследуемом материале. В качестве экспресс-метода применяют газожидкостную хроматографию для определения клостридий в раневом отделяемом. Серодиагностика не применяется (схема 20.17).

Профилактика и лечение. Вакцинопрофилактика не проводится. Для пассивной профилактики, так же как и для терапии, применяют антитоксическую поливалентную сыворотку или иммуноглобулин, полученный из этой сыворотки, который вводят внутримышечно в возможно более короткие сроки после ранения. В случае идентификации возбудителя показано введение антитоксической сыворотки против токсинов клостридий данного вида. Для этиотропного лечения применяют антибиотики (бета-лактамы, аминогликозиды), которые эффективны против клостридий, а также возбудителей вторичной инфекции. Анатоксин не получил применения для профилактики этого заболевания вследствие его низкой иммуногенности.

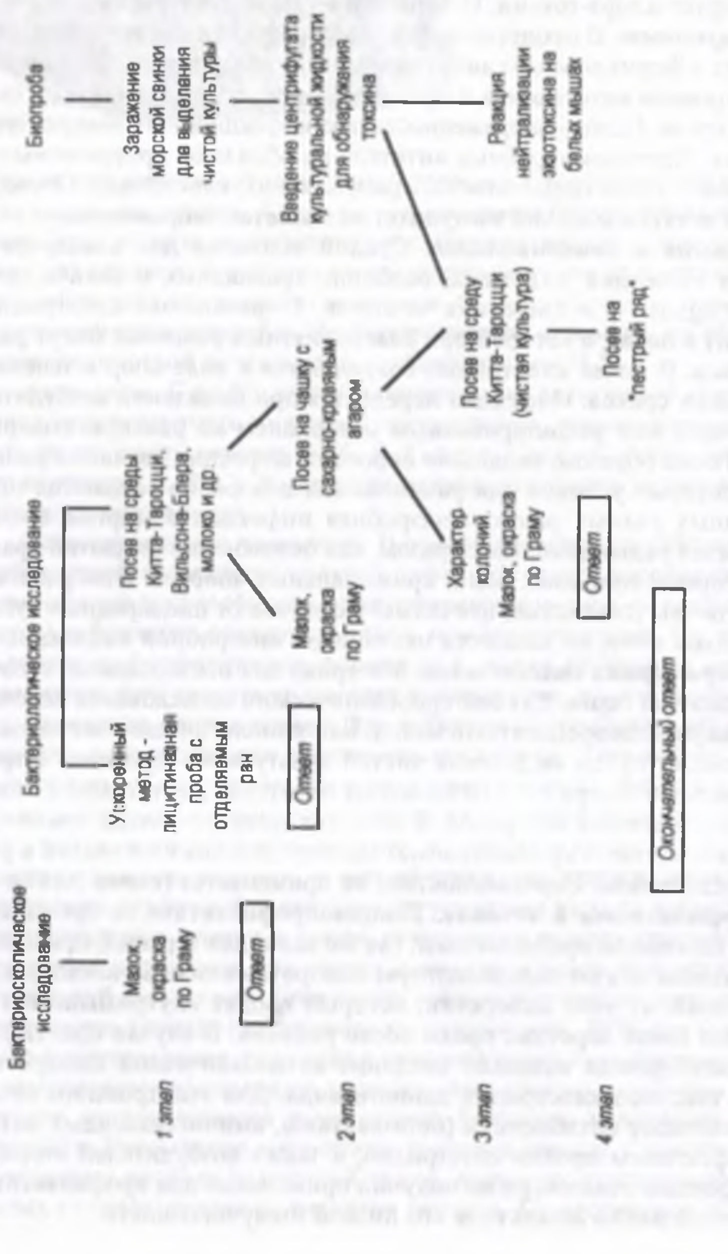


Схема 20.17. Микробиологические исследования при раневой анаэробной инфекции

20.8.2.2. Клостридии столбняка

Возбудитель столбняка C. tetani впервые обнаружен А. Николайером в 1884 г. и выделен в чистой культуре С. Китазато в 1889 г.

Морфология и физиология. Клетки C. tetani — крупные прямые, перитрихи, капсулу не образуют (*рис. 20.46 на цв. вкладке*). Споры круглые, больше диаметра клетки, расположены терминально (см. рис. 3.7). Углеводы не ферментируют, не образуют индола, восстанавливают нитраты, медленно свертывают молоко. Культивируются на среде Китта–Тароцци, сахарном кровяном агаре. Колонии окружены зоной гемолиза. Хемоорганотрофы. C. tetani не образуют каталазу и оксидазу, ферментируют глюкозу, лактозу и другие сахара, не образуют индола, восстанавливают нитраты, разжижают желатину.

Антигены. Содержат видоспецифический О-антиген и типоспецифические Н-антигены, по которым выделяют около 10 сероваров. Антигенная специфичность столбнячного экзотоксина стабильна.

Патогенность и патогенез. Патогенность C. tetani определяется секрецией сильнодействующих двух белковых токсинов. *Тетаноспазмин* представляет собой белок, непрочно связанный с клеткой. В питательной среде появляется в результате их аутолиза. Тетаноспазмин — функциональный блокатор, способный соединяться с рецепторами нейронов. Его токсичность объясняется прямым влиянием на процесс передачи нервных импульсов в головном и спинном мозге. *Тетанолизин* — секретируемый белок, антигенно сходный с О-стрептолизином и тета-токсином C. perfringens. Он относится к мембранотоксинам, вызывает гемолиз эритроцитов. Заболевание начинается после прорастания в ране спор возбудителя и продуцирования вегетативными клетками описанных токсинов, которые гематогенным путем разносятся по организму. У человека столбняк протекает по нисходящему типу. Независимо от места проникновения возбудителя в организм первыми симптомами являются тонические сокращения жевательных и мимических мышц, затем тоническое сокращение и спазм мышц затылка и спины. Тело принимает вид дуги. Смерть наступает от асфиксии и поражения жизненно важных нервных центров. Столбняк может наступить после родов, у новорожденных и после операций. У новорожденных столбняк возникает вследствие плохой обработки антисептиками пупочного канатика, у рожениц — при попадании спор через слизистую оболочку матки.

Иммунитет. После перенесения столбняка иммунитет отсутствует, хотя тетаноспазмин обладает выраженной иммуногенной активностью. Это связано с недостаточным его количеством вследствие быстрого проникновения в нейроны. Возможны повторные заболевания.

Экология и эпидемиология. Возбудитель столбняка широко распространен в природе. Средой обитания является кишечник животных и человека. С фекалиями он попадает в почву, в которой образуются споры, сохраняющиеся много лет. Заражение наступает только

при проникновении спор в организм через раневую поверхность, особенно при создании в них анаэробных условий.

Лабораторная диагностика. У больных практически не проводится вследствие выраженности клинической картины. В основном бактериологическое исследование на наличие возбудителя и его спор осуществляется для проверки стерильности перевязочного материала и препаратов, предназначенных для парэнтерального введения.

Профилактика и лечение. Вакцинопрофилактика столбняка проводится путем иммунизации взрослых и детей разными препаратами, в которые входит столбнячный анатоксин (АКДС, АДС — адсорбированная коклюшная вакцина и дифтерийно-столбнячные анатоксины). Для лечения применяется антитоксическая сыворотка и противостолбнячный иммуноглобулин.

20.8.2.3. Клостридии ботулизма

C. botulinum — возбудитель ботулизма, впервые описан Э. Ван Эрменгемом в 1896 г.

Морфология и физиология. Бактерии разного размера с перитрихиально расположенными жгутиками. Образует споры, которые придают бактериальной клетке вид теннисной ракетки (*рис. 20.47 на цв. вкладке*). Выраженной капсулы не имеют. Размножаются на глюкозо-кровяном агаре, образуя небольшие прозрачные колонии с ровными или изрезанными краями, окруженные зоной гемолиза (*рис. 20.48 на цв. вкладке*). На жидких средах наблюдается равномерное помутнение и осадок. Сахаролитические свойства непостоянны и не используются для идентификации этих бактерий. По протеолитическим свойствам не однородны. Протеолитические штаммы гидролизуют казеин и образуют H_2S.

Антигены. Вид C.botulinum неоднороден по антигенной специфичности образуемых токсинов. Последние подразделяются на 7 сероваров: А, В, С и т.д. Изучение антигенной структуры бактериальных клеток в связи с особенностями патогенеза ботулизма при идентификации возбудителя не проводится.

Патогенность и патогенез. Патогенность клостридий ботулизма связана с его токсином, являющимся самым сильным ядом, 1 мкг которого может убить взрослого человека. Экзотоксин является нейротоксином. Как и многие другие экзотоксины состоит из двух субъединиц, одна из которых отвечает за адсорбцию на рецепторах чувствительных клеток — нейронов, другая — за проникновение в них путем эндоцитоза и развитие последующих событий. Последние заключаются в ингибиции Са-зависимого освобождения ацетилхолина, вследствие чего блокируется передача нервного импульса через синапсы. Это приводит к поражению бульбарных нервных центров, нарушению походки, зрения, асфиксии и другим явлениям. Леталь-

ные исходы до 60%. Образование ботулотоксина контролируется профагом при лизогенизации данных бактерий и генами C.botulinum. При попадании клостридий в рану может возникнуть ботулизм ран. При этом вегетативные клетки продуцируют нейротоксин, вызывая картину пищевой интоксикации. У детей 3–8 мес. жизни ботулизм возникает в результате проникновения клостридий при родах через пупочный канатик. Болезнь протекает вяло вследствие поступления в организм малого количества токсина. Является причиной внезапной детской смертности.

Иммунитет. Постинфекционный иммунитет отсутствует. Это связано со слабыми иммуногенными свойствами ботулинистического экзотоксина.

Экология и эпидемиология. Естественной средой обитания C. botulinum является кишечник многих преимущественно травоядных животных, а также рыб, ракообразных, моллюсков, в котором они размножаются и выделяются с фекалиями в окружающую среду. Споры клостридий ботулизма в значительном количестве встречаются в почве, воде, иле. Они резистентны к высокой температуре, и выдерживают кипячение в течение 1–5 ч. Заражение происходит алиментарным путем. Причиной отравления является употребление рыбных, овощных, мясных консервов и других пищевых продуктов, в частности консервированных в домашних условиях.

Лабораторная диагностика. Проводится одновременное выделение возбудителя и определение наличия токсина в исследуемом материале. При этом обязательно определяют серовар токсина. Для обнаружения токсина проводят биопробы путем внутривенного заражения белых мышей. Для обнаружения клостридий материал засевается на жидкие питательные среды в несколько флаконов, часть из которых прогревают для уничтожения посторонней микрофлоры.

Профилактика и лечение. Вакцинопрофилактика не проводится. Для лечения используют противоботулиническую поливалентную сыворотку, поскольку антитела к одному серовару токсина не нейтрализуют другие серовары. Эту сыворотку вводят и с целью поздней профилактики лицам, подозреваемым в употреблении зараженных продуктов.

20.9. ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ АНАЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ, НЕ ОБРАЗУЮЩИЕ СПОР

К ним принадлежат многочисленные роды, среди которых роды Bacteroides, Prevotella, Fusobacterium, Porphyromonas имеют наиболее важное значение в инфекционной патологии человека.

20.9.1. Бактероиды

К роду Bacteroides относятся многочисленные виды. Из них B. fragilis, B. ureolyticum, B. thetaiotaomieron, B.melaninogenicus чаще других вызывают заболевания у человека (*рис. 20.49, 20.50, 20.51 на цв. вкладке*).

Морфология и физиология. Палочковидные клетки различных размеров. Как правило, неподвижные. Умеренно строгие анаэробы, хемоорганотрофы, метаболизируют углеводы, пептон или промежуточные продукты метаболизма. Размножение стимулируется гемином и витамином К. Не образуют пигменты.

Антигены. Антигены бактероидов отличаются вариабельностью и практически не используются для их идентификации и дифференцировки.

Патогенность и патогенез. Бактероиды принадлежат к условно-патогенным бактериям. У иммунодефицитных лиц участвуют в возникновении гнойно-воспалительных процессов в ассоциациях с аэробными бактериями. Факторами вирулентности являются капсулы, пили, белки наружной мембраны, которые участвуют в адгезии. Капсульный полисахарид как фактор агрессии защищает бактерии от фагоцитоза. Вместе с тем упомянутые виды бактероидов продуцируют ряд ферментов: нейраминидазу, фибринолизин, гепариназу, участвующие в инвазии, а также продукты метаболизма — жирные кислоты с короткой цепью, биогенные амины, нарушающие функциональную активность макрофагов и лейкоцитов. ЛПС участвует в подавлении активности фагоцитирующих клеток. Упомянутые виды бактероидов встречаются при перитонитах, абсцессах брюшной полости, легких и гнойно-воспалительных процессах другой локализации.

Экология. Бактероиды являются обитателями толстой кишки человека.

Лабораторная диагностика. Бактериологическое исследование с целью выделения чистой культуры и ее последующей идентификацией.

Профилактика и лечение. Для лечения используют антибиотики широкого спектра действия.

20.9.2. Фузобактерии

Род Fusobacterium включает многочисленные виды, среди которых для медицинской микробиологии наибольший интерес представляют F. nucleatum и F. necroforum.

Морфология и физиология. Фузобактерии — полиморфные, чаще веретенообразные, грамотрицательные палочки. Облигатные анаэробы. Спор и капсул не образуют, жгутиков не имеют. Хемоорганотрофы, обладают сахаролитическими свойствами, протеолитическая активность слабо выражена. Главный продукт ферментации — масляная кислота, которая образуется в большом количестве.

Патогенность и патогенез. Фузобактерии проникают в организм через слизистую оболочку полости рта. В месте проникновения образуется язва. Выделяющаяся в больших количествах масляная кислота подавляет фагоцитоз. При разрушении фузобактерий освобождается эндотоксин (ЛПС). F.necroforum продуцирует экзотоксин, вызывающий гемолиз и повреждающий лейкоциты. Видимо он относится к мембранотоксинам. В сочетании со спирохетой вызывает ангину Венсана, характеризующуюся некротическим поражением миндалин.

Экология. Фузобактерии встречаются, главным образом, в десневой борозде полости рта, кишечнике и половых путях, выделены также из крови и гнойных очагов различных органов, а также из трофических язв.

Лабораторная диагностика проводится с помощью бактериологического исследования, трудности возникают при идентификации фузобактерий и их дифференцировке от бактероидов и других бактерий.

Лечение. Для лечения используют фосфомицин, к которому фузобактерии очень чувствительны.

20.9.3. Превотеллы

К роду Prevotella относятся виды P. melaninogenicus (*см. рис. 20.51 на цв. вкладке*) и P. intemedius.

Морфология и физиология. Представляют собой полиморфные неподвижные неспорообразующие палочки. Образуют капсулу и пили. Обладают умеренными сахаролитическими свойствами. P. melaninogenicus образуют пигменты черного или темно-коричневого цвета.

Патогенез. Факторы вирулентности те же, что и бактероидов. Кроме того, они продуцируют протеазу, разрушающую IgA, и образуют очень токсичный ЛПС, который может вызвать септический шок. Встречаются при абсцессах легких, плевритах и периодонтитах.

Экология. Экологическая ниша — полость рта и верхние отделы респираторного тракта.

Лечение. Для лечения используют современные пенициллины.

20.9.4. Анаэробные грамотрицательные кокки

К ним относится несколько родов, в том числе род Veillonella, включающий семь видов. От людей были выделены V. atipica, V. dispar, V. parvula. Остальные виды выделены только от животных (хомяки, крысы, морские свинки и др.). Представляют собой грамотрицательные диплококки или короткие цепочки. Их культивируют на молочном агаре, на котором они образуют блестящие колонии. Метаболизм бродильного типа. Сбраживают лактат, пируват, фумарат. Не сбраживают углеводы. Для размножения нуждаются в CO_2. Средой обитания является полость рта, кишечник и дыхательные пути человека и животных. Вейллонеллы выделены от людей с абсцессами мягких тканей, раневыми инфекциями, синуситами, отитами и другими заболеваниями как в ассоциации с другими бактериями, так и в чистых культурах. Чувствительны к антибиотикам широкого спектра действия.

20.10. ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ НЕСПОРООБРАЗУЮЩИЕ АНАЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ И КОККИ

К ним относятся ряд родов, не включенных ни в какие семейства, которые встречаются при гнойно-воспалительных процессах различной локализации в ассоциациях с другими бактериями (стафилококки, стрептококки, синегнойная палочка, протей, кишечная палочка и др.). Это Propionibacterium, Eubacterium, Falcivibrio, Bifidobacterium и другие. Во многих случаях они содержат многочисленные виды, которые весьма сложно дифференцировать. Из кокков в данную группу включены роды Peptococcus и Peptostreptococcus. Их можно отнести к условно-патогенным микроорганизмам, поскольку их роль как самостоятельных возбудителей инфекционных заболеваний не доказана. Однако с каждым годом появляются данные, свидетельствующие об их значении в патологии человека.

Упомянутые бактерии, как правило, полиморфные неспорообразующие грамположительные некислотоустойчивые палочки. Подвижность часто бывает вариабельным признаком. Они являются хемоорганотрофами с метаболизмом бродильного типа. Факультативные анаэробы.

Пропионибактерии и эубактерии являются обитателями кожи и кишечника здоровых людей. Однако они были выделены при абсцессах мягких тканей, подчелюстных абсцессах, раневой инфекции и даже сепсисе.

Falcivibrio vaginalis встречаются при вагинитах и других гнойно-воспалительных процессах. Бифидобактерии обычно являются непа-

тогенными. Их часто используют для приготовления молочно-кислых продуктов. Они обнаруживаются в полости рта и кишечнике, сточных водах и были выделены при некоторых инфекционных процессах у человека.

Пептококки принадлежат к роду Peptococcus, к которому относятся несколько видов. Они представляют собой сферические бактерии, располагающиеся поодиночке, парами или в виде скоплений. Грамположительны, жгутиков не имеют, спор не образуют. Их культивируют на кровяных средах в анаэробных условиях. Хемоорганотрофы с низкой сахаролитической активностью. Пептококки обнаруживаются в полости рта, носа, носоглотки, женских половых органах, иногда на коже и в кишечнике здоровых людей. Их выделяют при различных воспалительных процессах: аппендиците, цистите, плеврите, послеродовой септицемии и других, обычно в ассоциациях с другими бактериями. Однако в ряде случаев пептококки были обнаружены в чистой культуре, что подтверждает их этиологическую роль в патологических процессах. Пептококки чувствительны к пенициллину, карбенициллину, аминогликозидам и другим антибиотикам.

Пептострептококки. Род Peptostreptococcus включает несколько видов. Они представляют собой грамположительные кокки, расположенные парами или в виде коротких цепочек. Жгутиков не имеют. Хемоорганотрофы, сбраживающие углеводы с образованием большого количества кислых продуктов и газа. Они не восстанавливают нитриты, не разжижают желатину и не образуют индол. Анаэробы. Для своего роста требуют сложных питательных сред с кровью. Обычно их обнаруживают в организме здоровых людей (полость рта, респираторный тракт, кишечник, женские половые органы). Пептострептококки были выделены при абсцессах, перитоните, аппендиците, остеомиелите, гнойном тромбофлебите и других заболеваниях, а также в ассоциациях с другими бактериями, а иногда в чистой культуре. Чувствительны к аминогликозидам, тетрациклинам, хинолонам и другим препаратам.

20.11. СПИРОХЕТЫ

К группе спирохет относятся семь родов, из которых три играют существенную роль в инфекционной патологии человека. Это роды Treponema, Borrelia и Leptospira. Они представляют собой подвижные бактерии спиральной формы, являются грамотрицательными. Однако окраской по Граму не пользуются, поскольку спирохеты плохо воспринимают анилиновые красители. Более приемлем метод импрегнации серебром или использование краски Романовского–Гимза. Снаружи спирохеты покрыты многослойной наружной мембраной,

под которой расположен протоплазматическнй цилиндр с цитоплазмой, окруженной цитоплазматической мембраной и клеточной стенкой. Спирально закрученный протоплазматический цилиндр обвит периплазматическими жгутиками. Они являются локомоторными органеллами спирохет и отличаются от жгутиков других бактерий, поскольку полностью локализованы внутри клетки и обвиты вокруг нее. Это дает возможность спирохетам плавно и целенаправленно передвигаться. Для них характерно три типа движения в жидкой среде: перемещение, вращение вокруг продольной оси и изгибание. Спирохеты — аэробы или факультативные анаэробы, хемоорганотрофы, использующие в качестве источников углерода и энергии углеводы, аминокислоты и жирные кислоты.

20.11.1. Трепонемы

Род Treponema включает многочисленные виды, из которых T. pallidum — возбудитель сифилиса у человека. Открыта Ф. Шаудином и Э. Гофманом в 1905 г. T. pertenue — возбудитель фрамбезии, T. carateum — возбудитель пинты.

20.11.1.1. Бледная трепонема

Морфология и физиология. T.pallidum имеет форму спирали, протоплазматический цилиндр, который скручен в 8–12 завитков. От концов клетки отходят 3 периплазматических жгутика. Бледная трепонема плохо воспринимает анилиновые красители, поэтому ее окрашивают краской Романовского–Гимза. Однако наиболее эффективным методом является ее изучение в темнопольном или фазово-контрастном микроскопе (рис. 20.52.). Микроаэрофил. На искусственных питательных средах не растет. T. pallidum культивируют в ткани яичка кролика, где она хорошо размножается и полностью сохраняет свои свойства, вызывая у животного орхит.

Антигены. Антигенная структура T. pallidum сложная. Она связана с белками наружной мембраны, липопротеидами. Последние являются перекрестно-реагирующими антигенами, общими для чело-

Рис. 20.52. T. pallidum (в темном поле)

века и крупного рогатого скота. Они используются в качестве антигена в реакции Вассермана для серодиагностики сифилиса.

Патогенность и патогенез. К факторам вирулентности бледной трепонемы относят белки наружной мембраны и ЛПС, проявляющие свои токсические свойства после освобождения из клетки. Вместе с тем, по-видимому, способность трепонемы при делении образовывать отдельные фрагменты, проникающие вглубь тканей, также можно отнести к факторам вирулентности. В патогенезе сифилиса различают три стадии. При первичном сифилисе наблюдается образование первичного очага — твердого шанкра в месте входных ворот инфекции, с последующим проникновением в регионарные лимфоузлы, где возбудитель размножается и накапливается. Первичный сифилис продолжается около 6 недель. Вторая стадия характеризуется генерализацией инфекции, сопровождающейся проникновением и циркуляцией возбудителя в крови, что сопровождается кожными высыпаниями. Продолжительность вторичного сифилиса у нелеченых больных колеблется в пределах 1–2 лет. В третьей стадии обнаруживаются инфекционные гранулемы (гуммы, склонные к распаду), локализующихся во внутренних органах и тканях. Данный период у нелеченых больных продолжается несколько лет и заканчивается поражением ЦНС (прогрессивный паралич) либо спинного мозга (спинная сухотка).

Иммунитет. При сифилисе имеет место гуморальный и клеточный иммунный ответ. Образующиеся антитела не обладают протективными свойствами. Клеточный иммунный ответ связан с фиксацией возбудителя и образованием гранулем. Однако элиминации трепонем из организма при этом не происходит. Вместе с тем неблагоприятные условия среды индуцируют образование трепонемами цист, которые локализуются в стенке кровеносных сосудов. Полагают, что это свидетельствует о переходе заболевания в стадию ремиссии. Наряду с цистами трепонемы образуют L-формы. При сифилисе формируется ГЗТ, которая может быть выявлена кожно-аллергической пробой с убитой взвесью трепонем. Полагают, что проявление третичного периода сифилиса связано с ГЗТ.

Экология и эпидемиология. Сифилис — типично антропонозная инфекция. Болеют только люди, которые являются резервуаром инфекции в природе. Передача инфекции происходит половым путем и значительно реже — через белье и другие предметы. Во внешней среде (воздух) трепонемы быстро погибают.

Лабораторная диагностика. При первичном сифилисе материалом для исследования является отделяемое твердого шанкра, которое подвергается темнопольной микроскопии. В последующие стадии проводят серодиагностику. С этой целью используют следующие серологические реакции: РСК с трепонемным антигеном (озвученный антиген) либо с кардиолипидным антигеном, реакция преципитации

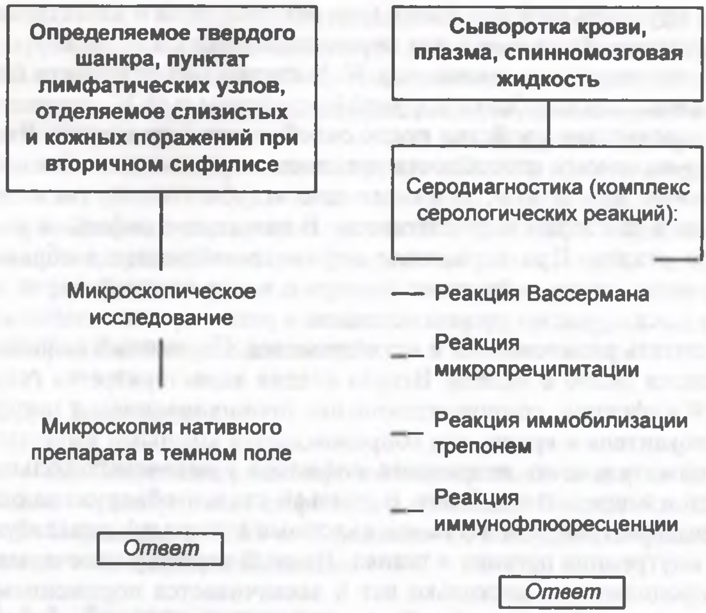


Схема 20.18. Микробиологические исследования при сифилисе

с неспецифическими антигенами. Недостатком этих реакций является возможность получения ложноположительных результатов. Более специфическая серодиагностика проводится в реакции иммобилизации трепонем, иммунофлюоресценции и при иммуноферментном анализе, где обнаруживаются белки наружной мембраны. Применяют также иммуноблотинг — исследование сыворотки больного с разными антигенами трепонем (схема 20.18).

Профилактика и лечение. Вакцинопрофилактика не разработана. Лечение проводится антибиотиками (пенициллин и др.). Антибиотикорезистентные штаммы трепонем практически не регистрируются.

20.11.1.2. Другие патогенные трепонемы

T. pertenue — возбудитель фрамбезии. По многим биологическим свойствам не отличается от бледной трепонемы. Однако в отличие от нее возбудитель фрамбезии патогенен не только для человека, но и для некоторых животных (обезьяны, кролики, крысы, хомяки). При фрамбезии так же как и при сифилисе различают три стадии болезни: 1-я стадия заключается в появлении в месте входных ворот инфекции болезненной язвочки или папилломы. Через 2–3 мес. начинается 2-я стадия болезни, заключающаяся в генерали-

зации процесса с характерными кожными высыпаниями (малиноподобные узелки). Продолжительность 2-й стадии 2–3 года. Для 3-й стадии характерны дистрофические процессы в коже и костях. Источник инфекции — больной человек. Заболевание носит характер семейных вспышек. Встречается в тропических странах Африки, Центральной Америки, Индии и др. Заражение происходит половым путем. Дети инфицируются через поврежденную кожу. Лабораторная диагностика такая же, как и при сифилисе. Бактериоскопия в 1-й период болезни, серодиагностика — в последующие периоды. Вакцинопрофилактика не разработана, для лечения применяют пенициллин и другие антибиотики.

T. carateum — возбудитель пинты. По многим биологическим признакам напоминает T.pallidum. Пинтой болеют только люди. Инфекция передается путем бытового контакта и, возможно, через насекомых (мошки). Заболевание, так же как и сифилис, протекает в 3 стадии. Начинается с появления коричневой папулы, затем происходит генерализация процесса. На коже появляются разного цвета пятна, возникает гиперкератоз подошв и ладоней, поражаются волосы. Отмечаются изменения со стороны сердечно-сосудистой, нервной и костной системы. Лабораторная диагностика заключается в бактериоскопическом исследовании экссудата из пораженных участков кожи и серодиагностике. В последнем случае применяют реакцию Вассермана, осадочные реакции и реакцию иммобилизации трепонем.

T. Bejel — возбудитель беджеля, относящегося к хроническим трепонематозам (эндемический сифилис), распространенного в основном в арабских странах. По биологическим признакам не отличается от бледной трепонемы. Патогенез заболевания сходен с сифилисом и фрамбезией. Болезнь характеризуется появлением сыпи на коже и слизистых оболочках в первый период, а затем поражений, сходных с сифилитическими гуммами. Источник инфекции — человек. Заболевание распространяется бытовым путем. Лабораторная диагностика и лечение проводятся так же, как и при сифилисе, фрамбезии и пинте.

20.11.2. Боррелии

Род Borrelia включает около 20 видов, из которых для человека патогенны только два: возбудитель эпидемического (вшивого) возвратного тифа B. recurrentis и эндемического (клещевого) возвратного тифа — B. duttoni, B. burgdorferi и др.

20.11.2.1. Боррелии эпидемического возвратного тифа

Открыты в 1868 г. О. Обермейером.

Морфология и физиология. Боррелии имеют форму тонкой спирали с тремя крупными завитками с заостренным концом (*рис. 20.53 на цв. вкладке*). Они окрашиваются краской Романовского–Гимза с сине-фиолетовый цвет, грамотрицательны. Боррелии — строгие анаэробы. Их культивируют на питательных средах, с животными белками (сыворотка крови, асцитическая жидкость, кусочки паренхиматозных органов или свернутый яичный белок). Хорошо размножаются в куриных эмбрионах.

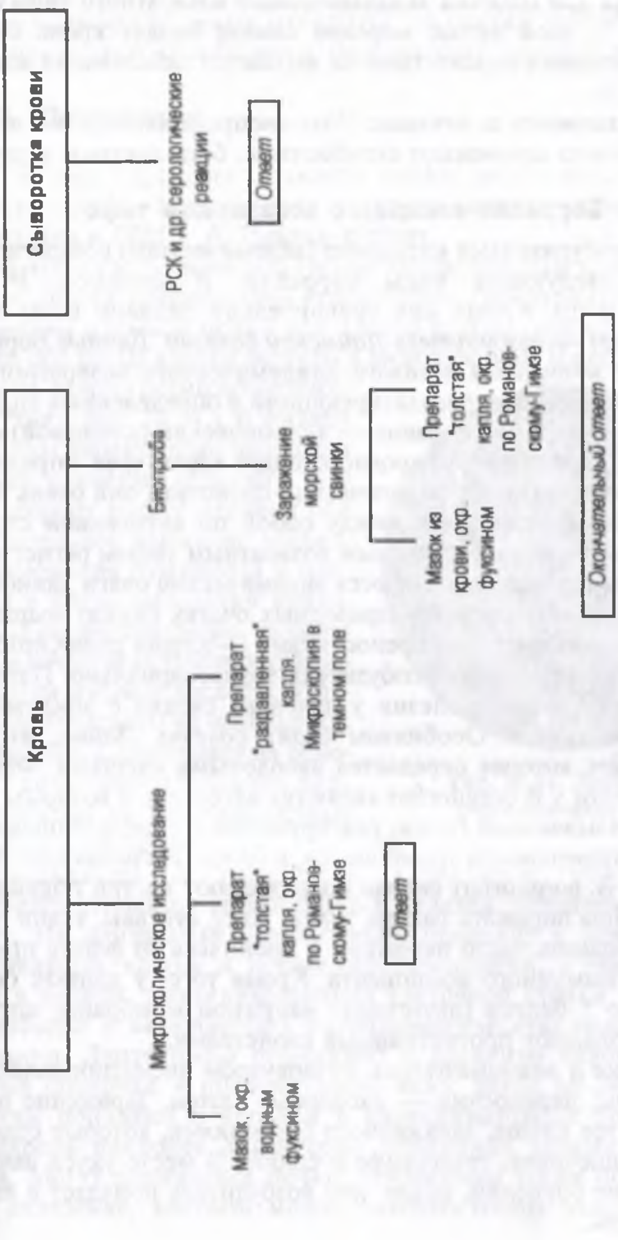
Антигены. Поверхностные антигены чрезвычайно вариабельны вследствие внутригеномных рекомбинаций. Поэтому серологическая идентификация боррелий не может иметь практического значения.

Патогенность и патогенез. Видимо, в инвазии боррелий участвует белок наружной мембраны. После проникновения в клетки лимфомакрофагальной системы боррелии размножаются в них, а затем поступают в кровяное русло. Компоненты клеточной стенки, которые освобождаются при лизисе боррелий, оказывают токсическое действие по типу эндотоксина. Поступление боррелий в кровь является причиной первого лихорадочного приступа. В крови больного в этот период накапливаются спирохетолизины, которые лизируют боррелии с освобождением эндотоксина. При этом часть боррелий с измененной антигенной структурой сохраняется и дает новую генерацию, нечувствительную к образовавшимся антителам. При повторном поступлении возбудителя в кровь начинается второй приступ. Одновременно образуются спирохетолизины, растворяющие вторую генерацию боррелий. Такие приступы болезни повторяются 5–6 раз, вызываемые новыми генерациями боррелий с измененной антигенной структурой. Эти приступы повторяются до прекращения поступления в кровь генераций боррелий с измененной антигенной специфичностью, после чего наступает выздоровление больного. В капиллярах внутренних органов под влиянием антител могут образоваться аггрегаты боррелий и тромбоцитов, в результате чего нарушается местное кровообращение с развитием геморрагических инфарктов.

Иммунитет. При возвратном тифе наблюдается гуморальный иммунный ответ. Постинфекционный иммунитет нестойкий. Регистрируются случаи повторных инфекций.

Экология и эпидемиология. Резервуаром инфекции в природе является больной человек. Переносчик — платяная вошь. Боррелии вместе с кровью попадают в кишечник вши и размножаются в гемолимфе. Заражение человека возможно только при втирании гемолимфы при расчесах. Для вшей боррелии непатогенны и сохраняются в течение всей жизни насекомого. Трансвариально не передаются.

Лабораторная диагностика. Материал для исследования — кровь, взятая во время приступа. Для диагностики используется мик-



С х е м а 20.19. Микробиологические исследования при возвратном тифе

роскопический метод: из крови приготавливаются мазки, которые окрашивают краской Романовского–Гимза. Серодиагностика проводится в реакции лизиса, РСК, реакции иммобилизации. Биопроба применяется для отличия эпидемического возвратного тифа от эндемического. С этой целью морской свинке вводят кровь больного. Боррелии эпидемического тифа не вызывают заболевания животного (схема 20.19).

Профилактика и лечение. Вакцинопрофилактика не проводится. Для лечения применяют антибиотики: бета-лактамы и др.

20.11.2.2. Боррелии клещевого возвратного тифа

Возбудителями клещевого (эндемического) возвратного тифа являются следующие виды боррелий: *B. caucasica, B. persica, B. duttonii* и др. Кроме них сравнительно недавно была описана *B. burgdorferi — возбудитель Лаймской болезни*. Данные боррелии, в отличие от возбудиеля вшивого эпидемического возвратного тифа, переносятся клещами, паразитирующими в определенных эндемических очагах. Отсюда и название — эндемический (клещевой) возвратный тиф. Для каждого природного очага характерен определенный вид возбудителя. По морфологическим свойствам они очень близки к B. recurrentis. Различаются между собой по антигенной структуре. Заболеваемость людей клещевым возвратным тифом регистрируется только в тем странах, где имеются эндемические очаги данной болезни. Резервуаром боррелий в природных очагах служат мышевидные грызуны разных видов, а переносчиками — клещи рода Ornithodoros. Клещи могут передавать возбудителя трансовариально. Патогенез и клиническая картина болезни у человека сходна с эпидемическим возвратным тифом. Особняком стоит *болезнь Лайма, вызванная B. burgdorferi*, которая передается иксодовыми клещами. Факторами вирулентности у B.borgdorferi являются адгезины, к которым относят коллагенсвязывающий белок, реагирующий с определенными интегринами на поверхности тромбоцитов, и белок, связывающий фермент урокиназу. B. borgdorferi сейчас подразделяют на три подвида, которые способны поражать разные ткани: кожу, суставы, ткани головного мозга. Болезнь часто переходит в хроническую форму при добавлении аутоиммунного компонента. Кроме того, у данных боррелий обнаружено 5 белков (антигенов) наружной мембраны, антитела к которым обладают протективными свойствами.

Экология и эпидемиология. Резервуаром инфекции являются дикие грызуны, переносчик — иксодовые клещи. Заражение происходит при укусе клеща, зараженного боррелиями, которые содержатся у него в кишечнике, гемолимфе и слюне. В месте укуса начинается размножение боррелий, после чего возбудитель попадает в лимфоузлы и в кровь.

Лабораторная диагностика проводится путем иммунофлюоресцентного исследования материала, взятого из места укуса в начале болезни. Начиная с конца 2-й недели, заболевания проводят серодиагностику.

Вакцинопрофилактика находится на стадии разработки. Для лечения применяют антибиотики: беталактамы, тетрациклин и др.

20.11.3. Лептоспиры

К роду Leptospira относятся свыше десяти видов, из которых только один — L. interrogans — патогенен для человека. Возбудитель изучен в 1925 г. А. Инадой с соавт.

Морфология и физиология. Гибкие спиралевидные клетки, слабоокрашивающиеся анилиновыми красителями, грамотрицательны. Хорошо заметны в темном поле и при фазово-контрастной микроскопии. Один или оба конца клетки загнуты в виде крючков. На обоих концах имеются по одному периплазматическому жгутику (рис. 20.54.). В жидкой среде видны характерные движения клеток как вращение то в одну, то в другую сторону вокруг длинной оси и поступательное движение вперед. Для размножения нуждаются в присутствии в среде сыворотки крови. Аэробы. Хемоорганотрофы, использующие в качестве источника углерода и энергии жирные кислоты. Углеводы и аминокислоты не используют.

Рис. 20.54. Лептоспиры в темном поле зрения

Антигены. L.interrogans на основании их антигенного различия дифференцируются на многочисленные серогруппы и серовары.

Патогенность и патогенез. К факторам вирулентности L. interrogans относятся способность к инвазии, устойчивость к фагоцитозу. Их длительная персистенция приводит к повреждению эндотелиальных клеток и появлению геморрагий, а также очагов некроза в печени. Липогликопротеид клеточной стенки синтезируется в избытке и включается в цитоплазматическую мембрану клеток хозяина. Лептоспиры проникают в организм человека через слизистые оболочки и поврежденную кожу. Затем по лимфатическим путям попадают в кровь и в паренхиматозные органы. Для лептоспироза наиболее характерно поражение печени, развитие желтухи. Могут поражаться почки, лептоспиры также обнаруживаются в селезенке, костном мозге, лимфатических узлах. Болезнь

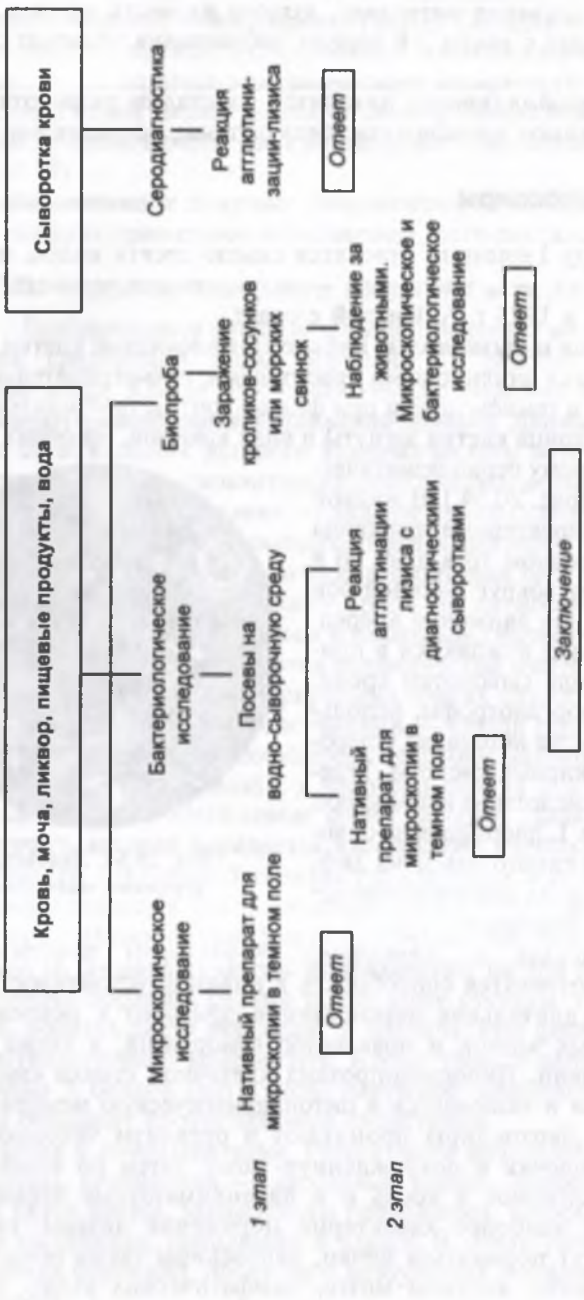


Схема 20.20. Микробиологические исследования при лептоспирозах

чаще всего претерпевает обратное развитие и заканчивается выздоровлением.

Иммунитет. При лептоспирозе имеет место гуморальный иммунный ответ. Постинфекционный иммунитет связан с антителами, которые сохраняются в течение многих лет. Однако иммунитет носит специфический характер, вследствие чего могут возникнуть повторные заболевания, вызванные другими сероварами лептоспир.

Экология и эпидемиология. Лептоспиры широко распространены в природе. Сапрофитные лептоспиры встречаются в водоемах, почве, иле и других объектах окружающей среды. Патогенные лептоспиры поражают многие виды животных и в первую очередь грызунов (полевки, крысы, песчанки, хомяки и др.). Лептоспироз — зоонозная инфекция. Она может протекать у животных в хронической форме с выделением их с мочой. Заражение человека происходит, главным образом, через воду и пищу (молоко, мясо, хлеб), инфицированную больными грызунами. В воде и почве лептоспиры сохраняют жизнеспособность в течение 2–3 недель, в пищевых продуктах — несколько дней.

Лабораторная диагностика. Используют микроскопический, микробиологический методы, а также биопробы и серодиагностику. Нативные препараты для микроскопии готовят из мочи и микроскопируют в темном поле зрения. Чистую культуру выделяют из крови или мочи с последующей микроскопией экссудата из брюшной полости. Кровью больного заражают внутрибрюшинно морскую свинку. Серодиагностику проводят со 2-й недели заболевания в реакции агглютинации-лизиса живых культур лептоспир разных сероваров (схема 20.20).

Профилактика и лечение. Вакцинопрофилактика не разработана. Для лечения используют антибиотики (пенициллин и др.), а также иммуноглобулин против лептоспир наиболее распространенных сероваров.

20.12. Микоплазмы (молликуты)

Эту группу составляют мелкие прокариоты, лишенные клеточной стенки. Их клетки отграничены только цитоплазматической мембраной и не способны к синтезу пептидогликана (см. рис. 3.11). Поэтому данные микроорганизмы устойчивы к пенициллину и другим антибиотикам, блокирующим синтез клеточной стенки. Микоплазмы плеоморфные микроорганизмы. Репликация генома предшествует, но не всегда соответствует делению. Как правило, неподвижны, грамотрицательны. Могут расти на синтетических питательных средах разной сложности. Большинство видов нуждается для роста в стеролах и жирных кислотах. Некоторые штаммы легче выделить при

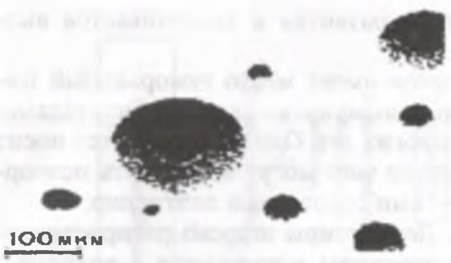


Рис. 20.55. Колонии микоплазмы пневмонии

использовании культур клеток. Большинство видов факультативные анаэробы. Образуют колонии, имеющие характерный вид яичницы-глазуньи (рис. 20.55). Некоторые из них патогенны для человека.

20.12.1. Микоплазма пневмонии

Возбудитель выделен М. Итоном в 1944 г. и на основании способности проходить через бактериальные фильтры был отнесен к вирусам. Род Mycoplasma включает несколько десятков различных видов, из которых патогенным для человека является M. pneumoniae, а к условно-патогенным и сапрофитическим видам принадлежат: M. hominis, M. fermentans, M. orale, M. arthritidis и др. (см. рис. 3.11).

Морфология и физиология. Морфологические признаки M. pneumoniae в основном соответствует таковым других микоплазм. Клетки окружены трехслойной мембраной. Для своего роста нуждается в стеролах. На твердых средах определенного состава образует типичные колонии в виде яичницы-глазуньи (см. рис. 20.55). Хемоорганотроф, в качестве источника энергии используют глюкозу или аргинин. Относится к факультативным анаэробам.

Антигены. Мембрана содержит видоспецифический антиген. Для серологической идентификации и дифференцировки широкое применение получил тест ингибиции роста — подавление размножения на твердой питательной среде с гомологичной антисывороткой.

Патогенность и патогенез. Поскольку M. pneumoniae является мембранным паразитом, то она прикрепляется к рецепторам и мембране эпителиоцитов верхних дыхательных путей. При этом липидные компоненты мембраны микоплазмы диффундируют в клеточную мембрану, а стеролы клетки поступают в мембрану микоплазмы. После проникновения в клетки микоплазма размножается в их цитоплазме, образуя микроколонии. Возможно гематогенное распространение микоплазмы, особенно у детей, у которых наряду с легкими поражаются печень, желудочно-кишечный тракт и другие органы. В фагоцитирующих клетках микоплазма может длительно персистировать и

заносится в разные органы. M.pneumoniae образует гемолизины. Она поражает клетки главным образом в результате тесного контакта с ними при воздействии токсических продуктов метаболизма (перекись водорода и др.). Это приводит к хронизации и медленному течению инфекционного процесса.

Иммунитет. При микоплазма-пневмонии инфекции формируется клеточный и гуморальный иммунный ответ. При этом образуются сывороточные антитела (SIgA), обеспечивающие местный иммунитет. Зараженные микоплазмой клетки являются мишенью для действия цитотоксических клеток. Продолжительность постинфекционного иммунитета после перенесения микоплазма-пневмонии зависит от интенсивности заболевания. После легких форм он непродолжителен, после тяжелых — не менее 5–7 лет.

Лабораторная диагностика. Основным методом является серодиагностика. С этой целью ставятся РНГА, РСК, ИФА и др. Иммунофлюоресцентному исследованию подвергают мазки из содержимого бронхов и биоптата. Выделение чистой культуры микоплазмы пневмонии удается в редких случаях.

Профилактика и лечение. Вакцинопрофилактика не разработана. Для лечения применяют антибиотики тетрациклинового ряда и др.

20.12.2. Уреаплазма

В составе рода выделено 5 видов. Из них один *U. urealyticum* патогенен для человека, вызывая заболевания мочеполовой системы человека. Клетки округлой или коккобактериальной формы. Цитоплазматическая мембрана содержит много стеролов. В мембране есть субъединица, напоминающая микрокапсулу. Культивируется на жидких средах со стеролом и дрожжевым экстрактом. На твердых средах образует мелкие колонии , которые могут не иметь характерного вида яичницы-глазуньи. Все штаммы гидролизуют мочевину с образованием аммиака. Аргинин и обычные углеводы не используют. Отдельные штаммы отличаются друг от друга по особым белкам, способствующим адгезии. Микроаэрофилы. Ureaplasma urealyticum также как M.pneumoniae является мембранным паразитом, но в отличие от нее она вступает в контакт с клетками цилиндрического эпителия уретры. При этом липидные компоненты мембраны диффундируют в клеточную мембрану. Кроме того, она продуцирует фосфолипазу, связанную с простагландинами эукариотических клеток. Видимо, данный фактор имеет отношение к преждевременным родам.

Лабораторная диагностика уреаплазма-инфекции проводится путем бактериологического исследования.

Лечение. Для лечения используют антибиотики (макролиды) и фторхинолон.

20.13. ХЛАМИДИИ

Облигатные внутриклеточные паразиты. Размножаются только внутри связанных с мембраной вакуолей в цитоплазме клеток человека, млекопитающих и птиц. Членистоногие не являются их хозяевами. Размножение происходит в ходе уникального цикла развития, состоящего в превращении мелких элементарных телец в более крупные тельца, которые делятся (см. рис. 3.10). Клеточная стенка не содержит мурамовую кислоту или содержит ее в следовых количествах. Не окисляют глюкозу с образованием АТФ. Таким образом, они полностью зависят от АТФ клеток хозяина. При добавлении кофакторов, в которых они нуждаются, хламидии могут метаболизировать глюкозу, а также пировиноградную и глютаминовую кислоты. Культивируются в желточном мешке куриных эмбрионов и в культурах клеток. На искусственных питательных средах не размножаются. Хламидии обладают специфическими антигенами. Один из них — термостабильный групоспецифический — представляет собой липогликопротеид. Другой — термолабильный видоспецифический антиген. У человека заболевание вызывают два вида рода Chlamidia — C. psittaci и C. trachomatis. Первый вид кроме человека патогенен для млекопитающих и птиц, второй — только для человека.

20.13.1. Хламидии орнитоза

В конце XIX в. заболевание, вызванное данными хламидиями, называли «пситтакоз» (*psittacus* — попугай). Впоследствии оказалось, что источником инфекции могут быть самые разнообразные птицы, и заболевание стали обозначать — «орнитоз» (*ornix* — птица). Возбудитель — C. psittaci.

Морфология и физиология. Сферические клетки, размеры которых зависят от стадии развития. Грамотрицательны. В клетке хозяина образуют микроколонии или включения (рис. 20.56).

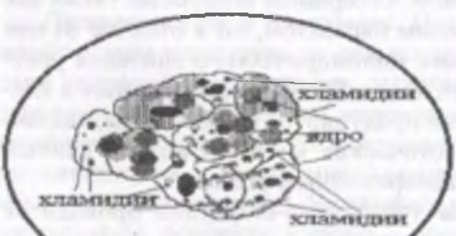


Рис. 20.56. Хламидии (схема)

Патогенность и патогенез. Возбудитель адгезируется на рецепторах эпителиоцитов бронхов, бронхиол и лимфоцитов, а затем проникает в них, где начинает размножаться. В конечном итоге клетки разрушаются и возбудитель вновь проникает в интактные клетки и в кровяное русло. С кровью он заносится в паренхиматозные органы. Персистенция C. psittaci в лимфоидной ткани приводит к рецидивам заболевания.

Иммунитет. При орнитозе имеет место гуморальный иммунный ответ, который сопровождается образованием иммуноглобулинов, выявляемых в серологических реакциях. Клеточный иммунитет, по-видимому, является более надежным и обеспечивает защиту от повторного заболевания. При заболевании развивается ГЗТ.

Экология и эпидемиология. Орнитоз является зоонозной инфекцией с природной очаговостью. Источник инфекции — птицы. Большинство из них разносит инфекцию на большие расстояния по пути миграции. Орнитоз у птиц распространяется как алиментарным, так и аэрогенным путем. Кроме орнитоза разные штаммы возбудителя вызывают энцефаломиелиты крупного рогатого скота, пневмонии, артриты и другие болезни. Люди заражаются воздушно-пылевым или воздушно-капельным путями.

Лабораторная диагностика. В основном проводится серодиагностика с помощью иммунофлюоресцентного метода и разных серологических реакций. Для выделения возбудителя из крови или мокроты проводят биопробы на белых мышах или заражение в желточный мешок куриных эмбрионов. Хороший результат дает кожно-аллергическая проба.

Профилактика и лечение. Вакцинопрофилактика не применяется. Для лечения используют тетрациклины.

20.13.2. Хламидии трахоматис

По морфологическим признакам не отличается от хламидий пситтаци. Они также образуют мелкие элементарные тельца, которые превращаются в ретикулярные тельца с их последующим делением. Клеточная стенка этих хламидий дефектна: в пептидогликане отсутствуют пептидные мостики. C. trachomatis имеет сложную антигенную структуру. Их подразделяют на серогруппы и серовары в зависимости от белков наружной мембраны: A, B, Ba, D–K, I–3. Выделено несколько биоваров по их различной способности прикрепляться к разным клеткам, в частности цилиндрическому эпителию уретры и конъюнктивы глаза (*рис. 20.57 на цв. вкладке*). Серогруппы I–3 являются возбудителями венерического лимфогрануломатоза. Серогруппы D–K выделяются при урогенитальном хламидиозе. К факторам патогенности урогенитальных хламидий относят белки наружной

мембраны, которые обладают эстеразной активностью, способствующей адгезии. После разрушения хламидий освобождается эндотоксин (ЛПС), вызывающий токсинемию. Урогенитальные хламидии стимулируют выработку гамма-интерферона при одновременном снижении уровня альфа-интерферона. Они могут персистировать в организме в течение длительного времени. В сыворотке крови больных обнаруживаются антитела к наружной мембране клеточной стенки. Кроме того, образуются перекрестно-реагирующие антитела с разными органами организма человека. Лабораторная диагностика проводится иммунофлюоресцентным методом, а также путем бактериологического исследования. Для лечения используют фторхинолон, макролиды, тетрациклин.

20.14. РИККЕТСИИ

Название дано в честь Р. Риккетса, открывшего в 1909 г. первого представителя этой группы микроорганизмов (возбудителя лихорадки скалистых гор) и погибшего в результате лабораторного заражения. Подавляющее большинство риккетсий относится к облигатным внутриклеточным паразитам, патогенным для человека, животных и членистоногих. Некоторые риккетсии, обитающие в организме насекомых, оказались необходимыми для жизни их хозяина. Для человека патогенны риккетсии родов Ricketsia, Rochalimae, Coxiella, Bartonella, Ehrlichia. Представители двух родов Rochalimae и Bartonella способны расти на питательных средах. Остальные ауксотрофны по НАД, вследствие чего не размножаются на искусственных питательных средах. Их культивируют в куриных эмбрионах.

20.14.1. Риккетсии, передающиеся вшами

К ним относятся риккетсии Провацека и пятидневной лихорадки (табл. 20.14), (рис. 20.58).

Рис. 20.58. Ricketsia Provazeca. ЭМ

20.14.1.1. Риккетсии эпидемического сыпного тифа

Открыты С. Провацеком в 1913 г., скончавшегося от лабораторного заражения.

Морфология и физиология. Риккетсии Провацека — полиморфные палочковидные либо кокковидные грамотрицательные микроорганизмы. Неподвижны, в клетках образуют капсулу. Вследствие дефекта в энергетическом

Таблица 20.14

Общая характеристика некоторых риккетсиозов

Группа	Возбудитель	Особенности паразитирования	Переносчики возбудителя	Источник инфекции	Наименование заболевания
Сыпные тифы	Ricketsia Provazeca	Размножаются в цитоплазме и эндотелии сосудов	Платяная и головная вши	Больной человек	Эпидемический сыпной тиф
		Там же	Крысиные блохи, крысиная вошь	Крысы, мыши	Эндемический (крысиный, блошинный) сыпной тиф
Пароксизмальный риккетсиоз	Rochalimae quintana	Внеклеточные паразиты	Платяная вошь	Больной человек, носитель	Волынская (пятидневная) лихорадка
Клещевые пятнистые лихорадки	Ricketsia conorica	Размножаются в цитоплазме и ядре	В основном собачий клещ	Южный собачий клещ	Марсельская лихорадка
	Ricketsia subrica	Там же	Иксодовые клещи	Грызуны	Северо-азиатский риккетсиоз
	Ricketsia ascari	Там же	Гамазовые клещи	Домовая мышь, черная и серые крысы	Везикулярный (осповидный) риккетсиоз
Риккетсиозы Эрлихиа	Ehrlichia canis	Гранулоциты	Клещи	Разные виды животных	Лихорадка Эрлихиа
	Ehrlichia sennetsu	Лимфоциты	—"—		
	Ehrlichia chaffeensis	Моноциты Макрофаги	—"—		
Риккетсиозы цуцугамуши	Ricketsia thusulsugamushi	Цитоплазма	Краснотельковые клещи	Грызуны, сумчатые	Лихорадка цуцугамуши
Ку-риккетсиозы	Coxiella burnetii	Вакуоли и цитоплазма макрофагов	Иксодовые и гамазовые клещи	Дикие и домашние животные	Ку-лихорадка (пневмориккетсиоз)

метаболизме — неспособность синтезировать НАД, полностью зависимы от своего хозяина и не могут размножаться на искусственных питательных средах. Их культивируют в желточном мешке куриного эмбриона, а также в клеточных культурах. Они размножаются бинарным делением в цитоплазме клеток (см. рис. 3.9).

Антигены. Риккетсии Провацека содержат два антигена: поверхностный растворимый термостабильный антиген (отделяется при обработке эфиром) и более глубоко расположенный термолабильный антиген. Первый является липидополисахаридопротеиновым комплек-

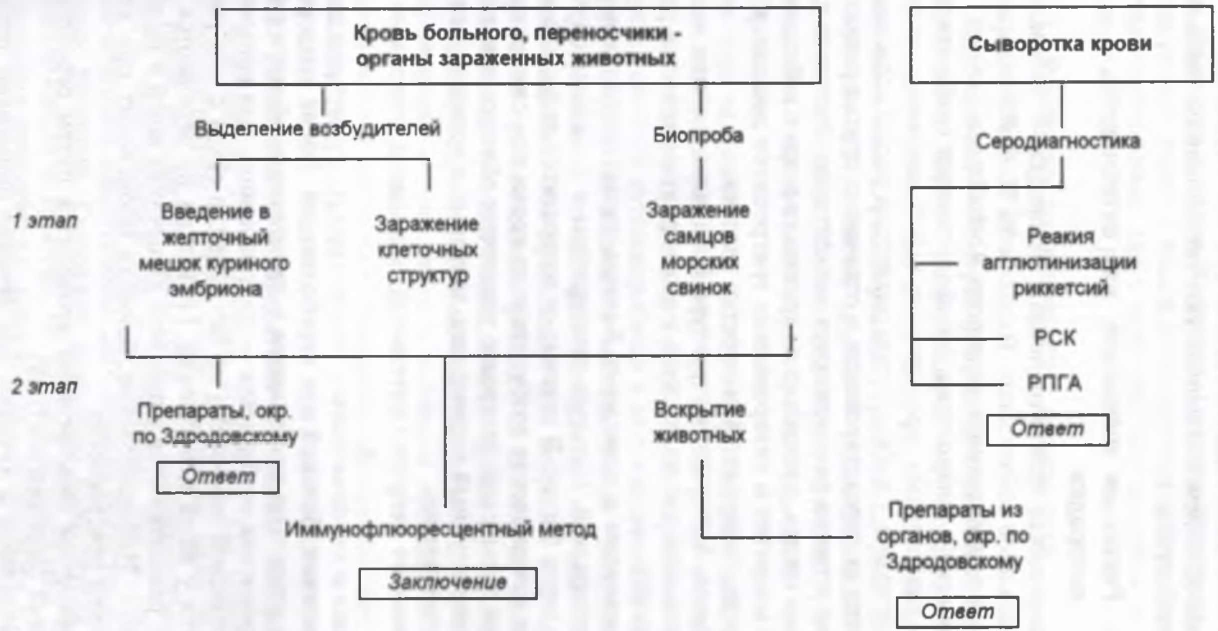
сом, не обладающим видовой специфичностью, поскольку аналогичный антиген имеется и у других риккетсий группы сыпного тифа. Он обладает иммуногенными свойствами и является протективным. Второй — корпускулярный видоспецифический антиген, присущий только риккетсиям Провацека.

Патогенность и патогенез. Адгезия происходит на холестеринсодержащих клеточных рецепторах. Риккетсии проникают в клетки путем рецепторного эндоцитоза и размножаются в макрофагах, фибробластах, в эндотелии капилляров. Однако клетки могут погибнуть до размножения риккетсий в результате действия токсического белка, содержащегося в капсулоподобной оболочке риккетсий. После разрушения клеток риккетсии попадают в кровь, вызывая поражение интактных эндотелиальных клеток. Поражение кровеносных капилляров приводит к образованию тромбов. Для сыпного тифа характерно поражение кровеносных капилляров многих органов, особенно головного мозга. Поражение кожных покровов выражается в обильной розеоло-петехиальной сыпи. Отсюда название болезни — сыпной тиф. В патогенезе сыпного тифа существенное значение имеет токсинемия, развивающаяся после освобождения эндотоксина и поступления его в кровь. Он вызывает генерализованную воспалительную реакцию.

Иммунитет. Постинфекционный иммунитет гуморальный антимикробный и антитоксический. В сыворотке крови определяются антитоксины. Важной особенностью иммунитета при сыпном тифе является то, что антигены риккетсий, локализованные на поверхности клеток, распознаются цитотоксическими лимфоцитами, в результате чего гибнут зараженные клетки.

Экология и эпидемиология. Резервуаром инфекции в природе является больной человек, кровь которого заразна около 20 дней, начиная с последних дней инкубационного периода. Переносчик инфекции — головная и платяная вошь. Риккетсии размножаются в кишечнике вши и с фекалиями попадают на кожу, а через расчесы — в организм человека. Вошь сохраняет свою заразность до конца жизни, но возбудитель не передается трансвариально. У части переболевших лиц может сохраниться длительное носительство риккетсий с возможным рецидивом. Повторный сыпной тиф получил название болезни Брилля–Цинссера в честь описавших ее авторов.

Лабораторная диагностика. Главным образом проводится серодиагностика в РНГА, РСК, иммуноферментным методом. Для дифференцировки от болезни Брилля сыворотку крови больного обрабатывают меркаптоэтанолом, разрушающим IgM, поскольку данные Ig характерны только для протекающей инфекции, а IgG длительно сохраняется в организме. Методы, используемые для лабораторной диагностики многих риккетсиозов, представлены в схеме 20.21.



С х е м а 20.21. Микробиологические исследования при риккетсиозах

Профилактика и лечение. Для специфической профилактики применяют различные вакцины: живую, живую комбинированную (из риккетсий и их антигенов) и химическую (из антигенов).

Лечение. Для лечения используют тетрациклины, левомицетин и другие антибиотики.

20.14.1.2. Риккетсии волынской, или пятидневной, лихорадки

Волынская, или пятидневная, лихорадка — доброкачественное инфекционное заболевание. Вызывается Rochalimaea quintana — риккетсиями единственного вида рода Rochalimaea.

Морфология и физиология. Морфологически возбудитель сходен с другими риккетсиями, представляет собой палочковидные клетки. Грамотрицательны. Особенностью риккетсий рода Rochalimaea является характер их паразитирования, в отличие от других риккетсий они в организме хозяина размножаются внеклеточно. Растут на сложных питательных средах, состоящих из кровяного агара с добавлением лошадиной сыворотки и лизированных эритроцитов лошади, а также в жидкой среде, содержащей сыворотку теленка.

Антигены. Антигенная структура R.quintana изучена мало. Есть данные, указывающие на наличие у них корпускулярного и растворимого антигенов.

Патогенность и патогенез. Болезнь характеризуется перемежающейся лихорадкой, подъемы температуры в типичных случаях повторяются через 5 дней. В отличие от возвратного тифа, для которого характерно исчезновение возбудителя из крови при снижении температуры, при волынской лихорадке риккетсии обнаруживаются в крови и в межприступный период; они длительное время не исчезают и после выздоровления.

Иммунитет непродолжительный, возможны повторные заболевания.

Экология и эпидемиология. Источником и резервуаром инфекции является человек, больной или переболевший. После выздоровления риккетсии длительно сохраняются в организме и обнаруживаются в крови. Переносчик возбудителя — платяная вошь, для которой возбудитель волынской лихорадки не патогенен, в связи с чем риккетсии сохраняются у вшей пожизненно. Риккетсии не передаются трансовариально, размножаются в просвете кишечника вшей и выделяются с фекалиями. Инфицирование человека происходит при втирании фекалий вшей при расчесах.

Лабораторная диагностика проводится путем серологических исследований (серодиагностика).

Профилактика и лечение. Для лечения применяют тетрациклины, левомицетин.

20.14.2. Риккетсии, передающиеся клещами

Это зоонозные заболевания, передающиеся клещами. Их возбудители относятся к родам Rickettsia, Coxiella, Bartonella, Ehrlichia. Риккетсии разных родов и видов локализуются в определенных частях клетки (цитоплазма, ядро, вакуоли), что является их видовым признаком (см. табл. 20.14.).

20.14.2.1. Риккетсии эндемического (крысиного) сыпного тифа

Возбудитель — R. typhi. Морфологически напоминают риккетсии Провацека. Хорошо размножаются в желточном мешке куриного эмбриона и в некоторых клеточных культурах. Имеют два типа антигенов: один из них растворимый термостабильный антиген, общий с риккетсиями Провацека, другой — термолабильный специфический для данного вида. Возбудитель образует токсин, тесно связанный с клеткой. По антигенной структуре он отличен от токсина риккетсий Провацека.

Патогенез эндемического сыпного тифа сходен с эпидемическим (вшивым) сыпным тифом. R. typhi, так же как и Провацека, размножается в цитоплазме клеток эндотелия. После перенесения болезни формируется стойкий антимикробный и антитоксический иммунитет. Резервуаром инфекции являются мелкие дикие грызуны: серые и черные крысы, мыши, от которых возбудитель передается людям с крысиными блохами. Это происходит при втирании в кожу фекалий блох, аэрогенно при попадании фекалий на слизистую оболочку верхних дыхательных путей, а также алиментарным путем с пищевыми продуктами, инфицированными мочой грызунов.

Лабораторная диагностика в основном проводится путем постановки серологических реакций.

Профилактика и лечение. Вакцинопрофилактики нет. Для лечения применяют тетрациклин.

20.14.2.2. Риккетсии — возбудители пятнистых лихорадок

Возбудители — R. conorica, R. subrica. По морфологическим, физиологическим и патогенным признакам мало чем отличаются от ранее описанных риккетсий. Их особенностью является способность размножаться как в цитоплазме, так и ядре клетки. Природно-очаговые риккетсиозы. Заболевание регистрируется в определенных регионах. Основной резервуар возбудителя в природе — разные клещи и грызуны. У клещей установлена трансвариальная передача возбудителя. Диагностика проводится путем серодиагностики.

20.14.2.3. Эрлихии

К риккетсиям, объединенным в род Ehrlichia, относятся E. canis, E. phagocytophila, E. chaffeensis, E. sennetsu. Они имеют мелкие размеры и обнаруживаются только при электронной микроскопии. Первые два вида размножаются в гранулоцитах, что приводит к развитию гранулоцитопении и иммунодефицита. E. sennetsu размножаются в лимфоузлах. При этом лимфоциты начинают пролиферировать, что приводит к появлению атипичных лимфоцитов. E chaffensis поражают моноциты и макрофаги, в результате чего в органах образуются специфические гранулемы. Вызывают зоонозные инфекции. Хозяева — животные, переносчики — клещи (см. табл. 20.14.).

20.14.2.4. Риккетсии цуцугамуши

Лихорадка цуцугамуши является острым риккетсиозом, вызываемым Rickettsia tsutsugamushi.

Морфология и физиология. По биологическим свойствам риккетсии, вызывающие лихорадку цуцугамуши, отличаются от риккетсий групп сыпного тифа и клещевых пятнистых лихорадок. Они имеют палочковидную и кокковидную форму, часто расположены попарно. Риккетсии размножаются только в цитоплазме, локализуясь в основном в околоядерной зоне. При культивировании риккетсий в клетках фибробластов куриного эмбриона образуются бляшки.

Антигены. Для риккетсий цуцугамуши, как и для других риккетсий, характерно наличие двух антигенов — растворимого и корпускулярного. По антигенной структуре риккетсии цуцугамуши неоднотипны, они разделяются на серовары.

Патогенность и патогенез. Риккетсии цуцугамуши образуют токсин, тесно связанный с клетками. По вирулентным свойствам риккетсии значительно различаются: одни штаммы высоковирулентны, другие вызывают легко протекающую инфекцию. На месте укуса личинки развивается первичный аффект, возникающий еще до конца инкубационного периода, продолжающегося 7–14 дней. Из первичного очага риккетсии проникают в регионарные лимфатические узлы, вследствие чего возникают регионарный лимфангит и лимфаденит, а затем — в кровь, и размножаются в эндотелиальных клетках кровеносных капилляров. В конечном итоге развиваются риккетсиемия и риккетсиозная интоксикация. При лихорадке цуцугамуши появляются аллергические реакции и сыпь.

Иммунитет. После перенесенной болезни развивается непродолжительный иммунитет, носящий строго специфический характер; перекрестных иммунологических реакций с другими риккетсиями не отмечается. Нестойкость иммунитета, а иногда и его штаммоспецифичность в определенной степени объясняются вариабельностью антигенных и иммуногенных свойств риккетсий цуцугамуши.

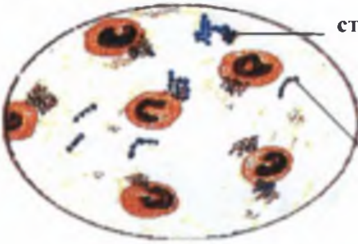


Рис. 20.1. Стафилококки и стрептококки. Мазок из гноя (окраска по Граму)

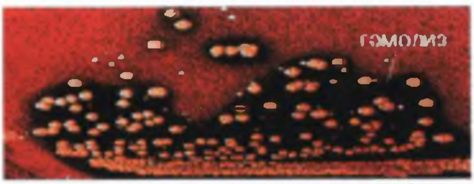


Рис. 20.2. Колонии стафилококка на кровяном агаре

а *б*

Рис. 20.4. Реакция на плазмокоагулазу:
а — положительная проба;
б — отрицательная проба

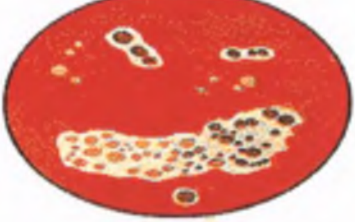


Рис. 20.6. Колонии S. pyogenes на кровяном агаре

Рис. 20.7. Streptococcus pneumoniae

Рис. 20.8. Гонококки в гное (мазок, окраска по Граму)

Рис. 20.9. Кишечная палочка и сальмонелла тифи в чистой культуре

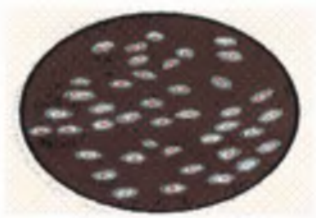


Рис. 20.13. Клебсиелла пневмонии

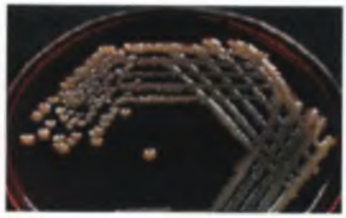


Рис. 20.14. Рост клебсиелл на кровяном агаре

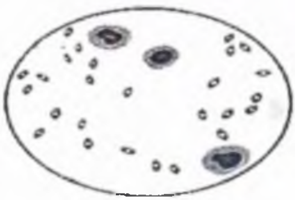


Рис. 20.16. Yersinia pestis в мазке из гноя. Окраска метиленовой синькой

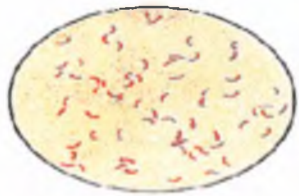


Рис. 20.19. V. cholerae

Рис. 20.20. V. cholerae. Сканирующая ЭМ

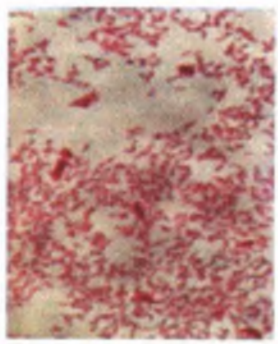


Рис. 20.21. Кампилобактерии. Мазок

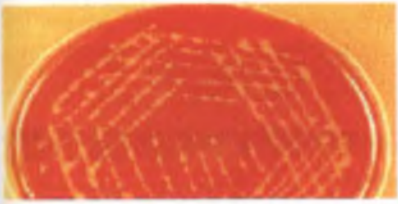


Рис. 20.22. Кампилобактерии. Рост на питательной среде

Рис. 20.23. Haemophilus influenzae

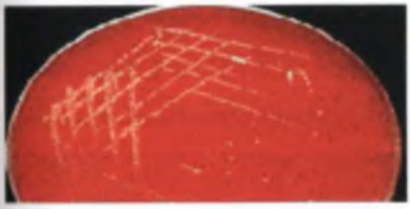


Рис. 20.24. Haemophilus influenzae. Колонии на кровяном агаре

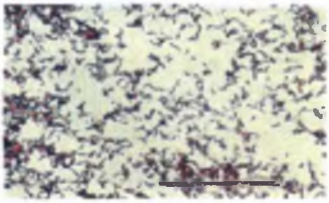


Рис. 20.25. Гарднереллы (мазок)

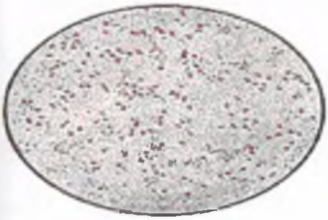


Рис. 20.29. Francisella tularensis (мазок из чистой культуры, окраска по Граму

Рис. 20.30. Legionella pneumoniae (мазок из чистой культуры)

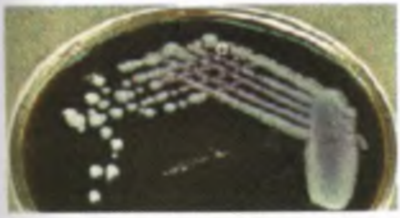


Рис. 20.31. Legionella pneumoniae (рост на питательной среде)

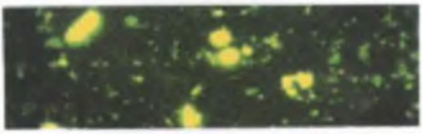


Рис. 20.32. Legionella pneumoniae (флюоресцентное поле УФ-облучения)

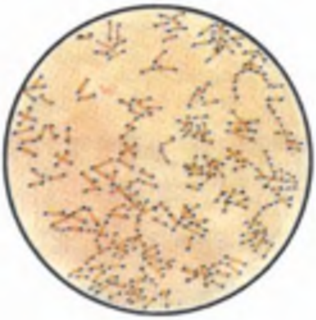


Рис. 20.33. Коринебактерии дифтерии в чистой культуре (окраска по Нейссеру)

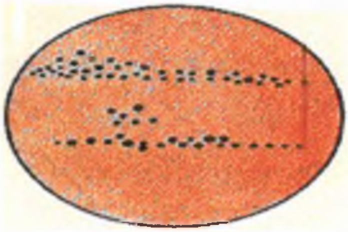


Рис. 20.34. Колонии C. diphtheriae на теллуритовой среде

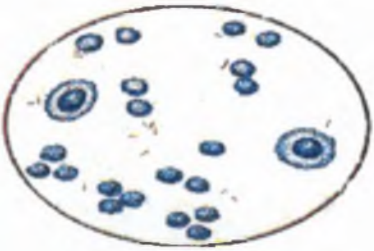


Рис. 20.36. Микобактерии туберкулеза (мазок из мокроты, окраска по Цилю–Нильсену)

Рис. 20.37. M. tuberculosis. Корд-фактор (окраска по Цилю–Нильсену)

Рис. 20.38. Кожно-аллергическая проба (реакция Манту)

Рис. 20.39. M. leprae (мазок, окраска по Цилю–Нильсену)

Рис. 20.40. Друза актиномицетов

Рис. 20.41. B. anthracis (мазок из гноя, окраска по Ожешко)

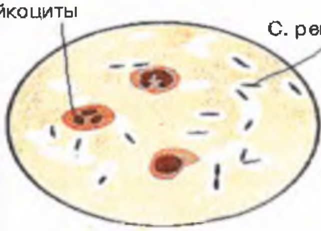


Рис. 20.44. C. perfringens (мазок из паталогического материала, окраска по Граму)

Рис. 20.46. Clostridium tetani в чистой культуре (окраска по Ожешко)

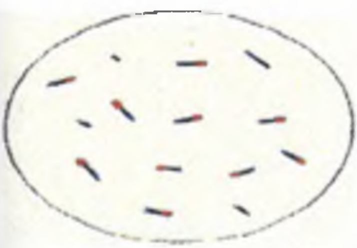


Рис. 20.47. Clostridium botulinum в чистой культуре (окраска по Ожешко)

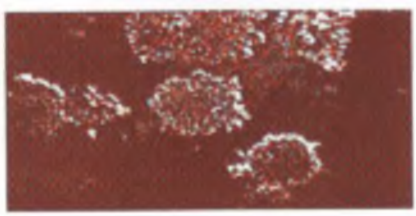


Рис. 20.48. Колонии C. botulinum на кровяном агаре

Рис. 20.49. Bacteroides fragilis

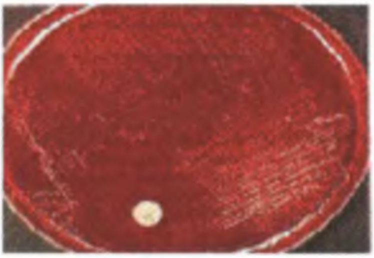


Рис. 20.50. Рост B. fragilis на кровяном агаре

Рис. 20.51. B. melaninogenicus (рост на кровяном агаре)

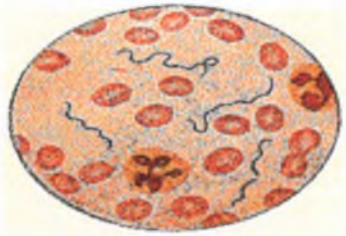


Рис. 20.53. Боррелии возвратного тифа (мазок из крови, окраска по Романовскому–Гимзе)

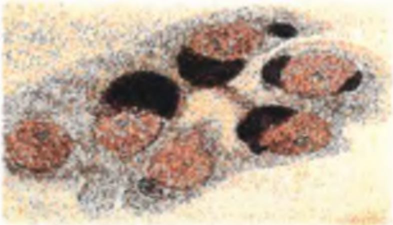


Рис. 20.57. Тельца Провацека (микроколонии Chlamidiae trachomatis в коньюктиве глаза, окраска по Романовскому–Гимзе)

Экология и эпидемиология. Лихорадка цуцугамуши является природно-очаговым риккетсиозом, распространена в странах Восточной и Юго-Восточной Азии, Австралии, в РФ — на Дальнем Востоке. Резервуаром инфекции и переносчиком являются клещи-краснотелки, дополнительным резервуаром инфекции могут быть мелкие грызуны, сумчатые и насекомоядные. Взрослые клещи способны передавать риккетсии потомству трансовариально. Заражение человека происходит в результате нападения личинок, т.е. заражение возможно в местах их обитания, чем определяется очаговость болезни. Риккетсии цуцугамуши, как и другие риккетсии, неустойчивы к факторам окружающей среды.

Лабораторная диагностика. Основным методом лабораторной диагностики является серологический. Для выделения возбудителя из крови больных заражают белых мышей.

Профилактика и лечение. Профилактика в основном сводится к индивидуальной защите от клещей и ликвидации мест их выплода. Для специфической профилактики предложена вакцина. Для лечения применяют левомицетин и антибиотики группы тетрациклина.

20.14.2.5. Коксиеллы Бернета

Возбудителем лихорадки Ку является Coxiella burnetii. Болезнь впервые описана в 30-х годах XX в. в Австралии Ф.Бернетом, а затем и в других странах. Болезнь получила название «Ку-лихорадка» по начальной букве английского слова «*Query*» — «неясный» (см. табл. 20.14).

Морфология и физиология. Возбудитель лихорадки Ку морфологически представляет собой палочковидные клетки иногда расположенные попарно, а также сферические клетки (рис. 20.59). Грамотрицательны. Риккетсии Бернета не растут на питательных средах, хорошо размножаются в куриных эмбрионах, в культурах клеток куриных и мышиных фибробластов и др. Наибольшее количество риккетсий удается получить при культивировании их в куриных эмбрионах.

Рис. 20.59. Coxiella burnetii. ЭМ

Антигены. Риккетсии Бернета содержат два антигена — I фазы и II фазы. Антиген I фазы является поверхностным полисахаридом, антиген II фазы расположен в клетках более глубоко, его химическая природа неизвестна. У риккетсий, выделенных из организма больного или инфицированного животного, определяется антиген I фазы. Риккетсии Бернета образуют токсин, как и другие риккетсии.

Патогенность и патогенез. Возбудитель попадает в организм человека через слизистые оболочки или поврежденную кожу, воспалительной реакции на месте внедрения не отмечается. После проникновения риккетсий возникает так называемая малая первичная риккетсиемия. Затем возбудитель попадает в макрофаги лимфоидной ткани, в которых размножается. Разрушение макрофагов ведет к выходу риккетсий и генерализации инфекционного процесса. Ку-лихорадка характеризуется выраженным полиморфизмом, и поэтому по клиническим проявлениям ее часто трудно диагностировать.

Иммунитет. После выздоровления возникает прочный и длительный гуморальный иммунитет. Развивается ГЗТ.

Экология и эпидемиология. Лихорадка Ку распространена практически повсеместно, однако она зарегистрирована только в отдельных странах (Финляндия, Швеция, Норвегия, Дания, некоторые страны Западной Африки, Южной Америки и др.). В РФ болезнь выявлена только в некоторых областях. Лихорадка Ку является зоонозной инфекцией с природной очаговостью. Различают природные очаги (первичные) и сельскохозяйственные (вторичные). В природных очагах заражены многие виды иксодовых и некоторых других клещей, риккетсии обнаруживаются у многих диких грызунов и других животных, а также у птиц. Отмечены трансовариальная передача риккетсий. Следовательно, в природных очагах происходит циркуляция риккетсий Бернета по цепи:

клещи –> теплокровные животные –> клещи.

В сельскохозяйственных очагах резервуаром возбудителя являются домашние животные, в основном крупный и мелкий рогатый скот. Заражение человека возможно воздушно-пылевым путем, алиментарным при употреблении в пищу молока и молочных продуктов, а также через загрязненные руки и через переносчика. Риккетсии Ку-лихорадки в отличие от других видов риккетсий довольно устойчивы к факторам окружающей среды. Они длительно сохраняются в сухом виде и во влажных материалах.

Лабораторная диагностика. В основе лабораторной диагностики лежат серологические реакции (РСК и др.). Для диагностики, в основном ретроспективной, применяется постановка кожно-аллергической пробы. В сомнительных случаях рекомендуется заражение морской свинки для выделения риккетсий.

Профилактика и лечение. Вакцинопрофилактику проводят живой вакциной, предложенной П.Ф. Здродовским и В.А. Гениг. Вакцина вводится накожно. Для лечения применяют антибиотики группы тетрациклина и левомицетин.

Вопросы для самоконтроля

1. Какие бактерии вызывают преимущественно детские инфекции?

2. В чем состоят различия между патогенностью бактерий, риккетсий, хламидий и микоплазм и каковы особенности лабораторной диагностики, вызываемых ими инфекций?

3. Возбудители каких бактериальных инфекций представляют наибольшую эпидемическую опасность для населения и в чем причины этой опасности?

4. Для профилактики каких бактериальных инфекций применяются вакцины, иммуноглобулины?

5. Почему для правильного выбора материала для лабораторного исследования необходимо знание патогенеза инфекции? Приведите примеры патогенетически обоснованного выбора материала для лабораторного исследования.

6. С какой целью проводится типирование (серотипирование, фаготипирование и т.д.) выделенного возбудителя инфекции в каждом отдельном случае? Каково прикладное значение таких исследований?

7. С помощью каких методов лабораторных исследований можно уточнить выбор препарата для этиотропного лечения?

8. Чем принципиально различается выбор методов лабораторной диагностики при инфекциях с острым и хроническим течением? Приведите примеры.

9. Чем определяется выбор препаратов для экстренной профилактики при непосредственной угрозе заражения, возникновения той или иной инфекции (скарлатина, столбняк, ботулизм, дифтерия, холера и др.)?

10. Каковы объективные причины длительности бактериологической диагностики инфекций? За счет чего удается сократить сроки исследования при экспресс-диагностике? Приведите примеры в случае анаэробной раневой инфекции, менингита, туберкулеза, кишечных инфекций, холеры, чумы и др.

11. В каких случаях при лабораторной диагностике инфекции предпочтение отдается: а) микроскопическим методам; б) бактериологическим методам; в) серологическим методам; г) кожно-аллергическим пробам? Приведите примеры.

12. Каковы биологические особенности отдельных возбудителей бактериальных инфекций?

13. Каковы экологические и эпидемиологические особенности важнейших бактериальных инфекций?

14. Каковы особенности патогенеза и иммунологии важнейших бактериальных инфекций?

ГЛАВА 21
МЕДИЦИНСКАЯ ВИРУСОЛОГИЯ

Вирусы являются возбудителями многих острых и хронических (персистирующих, медленных) инфекционных заболеваний. Несмотря на существенные различия между ними, вирусные инфекции характеризуются рядом общих закономерностей.

Разнообразие вирусов — возбудителей отдельных заболеваний — требует их рассмотрения в порядке систематического положения, хотя патогенетические и клинические признаки некоторых из этих болезней довольно сходны. Однако для вирусов гепатита и онкогенных вирусов сделано исключение. Все вирусы гепатита, так же как онкогенные вирусы, рассмотрены в одной группе, несмотря на то, что они относятся не только к разным видам, но и различным семействам.

21.1. РНК-СОДЕРЖАЩИЕ ВИРУСЫ

К РНК-вирусам относятся большинство патогенных для человека вирусов. Они отличаются многообразием строения генома, высокой изменчивостью и скоростью эволюции, что приводит к появлению новых возбудителей инфекционных заболеваний. Большинство РНК-геномных вирусов репродуцируется в цитоплазме клетки, хотя некоторые из них на определенных этапах развития локализуются внутри ядра. В настоящее время известно 13 патогенных для человека семейств РНК-геномных вирусов: Picornaviridae, Caliciviridae, Reoviridae, Retroviridae, Togaviridae, Flaviviridae, Bunyaviridae, Arenaviridae, Filoviridae, Rhabdoviridae, Coronaviridae, Paramyxoviridae, Orthomyxoviridae.

21.1.1. Семейство пикорнавирусов (Picornaviridae)

Семейство пикорнавирусов (*pico* — маленький, *RNA* — РНК) включает в себя наиболее просто организованные вирусы, многие из которых патогенны для человека. Они относятся к четырем родам (Enterovirus, Rinovirus, Cardiovirus, Aphtovirus), имеющим ряд общих

признаков: мелкие размеры (около 28 нм), положительный РНК-содержащий геном, который функционирует в качестве *и*РНК и обладает инфекционными свойствами, отсутствием внешней оболочки, кубическим типом симметрии капсида и сходными механизмами репродукции.

В основе дифференциации родов лежат антигенные различия, неодинаковая чувствительность к низким значениям pH, разная патогенность для человека и некоторые другие признаки.

Энтеровирусы вызывают у людей нейроинфекции и заболевания различных органов и тканей.

Кардиовирусы и афтовирусы патогенны преимущественно для животных. К афтовирусам относится вирус ящура.

21.1.1.1. Энтеровирусы

Патогенными для человека являются вирусы полиомиелита, Коксаки группы А и В, ЕСНО, энтеровирусы серотипов 68–72 и вирус гепатита А.

Полагают, что энтеровирусы весьма интенсивно эволюционируют, о чем свидетельствует формирование новых типов возбудителей с необычной локализацией в организме. Например, энтеровирус серотипа 70 поражает конъюнктиву глаза, вызывая острый геморрагический конъюнктивит.

Все энтеровирусы близки между собой по своей структуре, химическому составу, резистентности к физическим и химическим факторам и другим свойствам. Наиболее изученным из них является вирус полиомиелита.

21.1.1.1.1. Вирусы полиомиелита

Фильтрующийся агент, названный впоследствии вирусом полиомиелита (синоним полиовирус), был выделен в 1909 г. при заражении обезьян К. Ландштейнером и Е. Поппером из спинного мозга умершего от полиомиелита ребенка.

Структура и химический состав. Однонитевая РНК ассоциирована с внутренним белком, при удалении которого ее инфекционность сохраняется. Капсид вириона построен по икосаэдрическому типу симметрии и состоит из 60 субъединиц (рис. 21.1).

Культивирование и репродукция. Вирусы полиомиелита хорошо репродуцируются с выраженным ЦПД в первичных и перевиваемых культурах разного происхождения (фибробласты человека, клетки HeLa и др.).

Адсорбция полиовирусов происходит преимущественно на липопротеиновых рецепторах клетки, в которую они проникают путем виропексиса, — вирус захватывается клеточной мембраной, которая впячивается внутрь, образуя микровакуоль. После освобож-

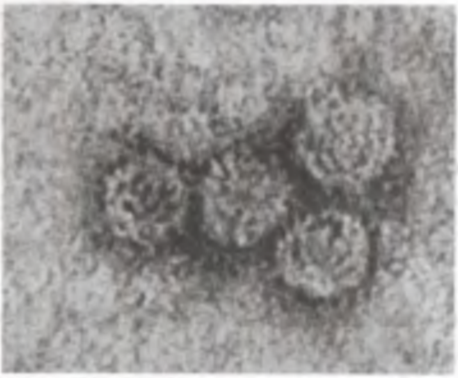


Рис. 21.1. Вирус полиомиелита. ЭМ. Негативный контраст. Ув. 500 000

дения вириона от капсида образуется репликативная форма РНК, которая является матрицей для синтеза *и*РНК и фонда вирионных РНК. Репродукция полиовируса происходит в цитоплазме чувствительных клеток.

Вначале синтезируется единый гигантский полипептид, который разрезается протеолитическими ферментами на несколько фрагментов. Одни из них представляют собой капсомеры, из которых строится капсид, другие — внутренние белки, третьи — вирионные ферменты (РНК-транскриптаза и протеаза). Затем происходит формирование нескольких сотен вирионов в каждой инфицированной клетке, которые освобождаются после ее лизиса.

Антигены. Вирусы полиомиелита разделены на три серологических типа (I, II и III), которые различаются между собой по антигенной структуре и некоторым другим биологическим признакам. Все три серотипа имеют общий комплементсвязывающий антиген. Их дифференциация производится в реакции нейтрализации.

Патогенез. Входными воротами инфекции является слизистая оболочка рта и носоглотки. Первичная репродукция вируса происходит в эпителиальных клетках слизистой оболочки рта, глотки и кишечника, в лимфатических узлах глоточного кольца и тонкой кишки (пейеровых бляшках).

Из лимфатической системы вирус попадает в кровь. Стадия вирусемии продолжается от нескольких часов до нескольких дней. В некоторых случаях вирус проникает в нейроны спинного и головного мозга, по-видимому, через аксоны периферических нервов. Это может быть связано с повышенной проницаемостью гематоэнцефалического барьера за счет образующихся иммунных комплексов.

Репродукция вируса в двигательных нейронах передних рогов спинного мозга, а также в нейронах большого и продолговатого моз-

га приводит к глубоким, нередко необратимым изменениям. В цитоплазме пораженных нейронов, которые подвергаются глубоким дегенеративным изменениям, обнаруживается кристаллоподобные скопления вирионов.

Иммунитет. После перенесения заболевания формируется пожизненный гуморальный иммунитет к соответствующему серотипу вируса. Протективными свойствами обладают вируснейтрализующие антитела, которые начинают синтезироваться еще до появления параличей. Однако их максимальные титры (1 : 2048 и более) регистрируются через 1–2 мес. и обнаруживаются в течение многих лет. Это имеет практическое значение для ретроспективной диагностики полиомиелита. Пассивный иммунитет, приобретенный после рождения, сохраняется в течение первых 4–5 недель жизни ребенка. Высокая концентрация антител в сыворотке не предотвращает развитие параличей после того, как полиовирус проник в ЦНС.

Эпидемиология. Наиболее чувствительны к полиомиелиту дети, однако заболевают и взрослые. Нередко распространение полиомиелита приобретает эпидемический характер. Источником инфекции являются больные и вирусоносители. Выделение вируса из глотки и с фекалиями начинается в инкубационный период. После появления первых симптомов заболевания вирус продолжает выделяться с фекалиями, в 1 г которых содержится до 1 млн. инфекционных доз. Поэтому главное значение имеет фекально-оральный механизм передачи инфекции через загрязненные фекалиями воду и пищевые продукты. Определенная роль принадлежит мухам. В эпидемических очагах может происходить инфицирование людей воздушно-капельным путем. Устойчивость полиовируса во внешней среде сравнительно велика. Он сохраняет свои инфекционные свойства в сточных водах при 0°С в течение месяца. Нагревание при температуре 50°С инактивирует вирус в течение 30 мин. в воде, а при 55°С в молоке, сметане, масле и мороженом. Вирус устойчив к детергентам, но высокочувствителен к УФ-лучам и высушиванию, а также к хлорсодержащим дезинфектантам (хлорная известь хлорамин).

Профилактика. Инактивированная вакцина, полученная Дж. Солком в США путем обработки вируса раствором формалина, обеспечивает достаточно напряженный типоспецифический гуморальный иммунный ответ. К недостаткам инактивированной вакцины следует отнести необходимость ее трехкратного введения парентеральным путем. Кроме того, она не обеспечивает надежного местного иммунитета кишечника.

А. Себиным в США были получены аттенуированные варианты вирусов полиомиелита, из которых в конце 50-х годов советскими вирусологами А.А. Смородинцевым и М.П. Чумаковым была приготовлена живая полиовирусная вакцина. Вакцинные штаммы оказались

генетически стабильны. Они не реверсировали к «дикому типу» при пассажах через кишечник людей и не репродуцировались в клетках ЦНС.

Основное отличие вакцинных от исходных, «диких», штаммов состоит в их безвредности для человека.

Живая вакцина имеет ряд преимуществ по сравнению с инактивированной. Она обеспечивает не только общий гуморальный иммунитет, но и местный иммунитет кишечника за счет синтеза секреторных иммуноглобулинов класса А. Вместе с тем в результате интерференции вирусов с «дикими» типами полиовируса в эпителиальных клетках слизистой оболочки тонкого кишечника происходит элиминация последних из организма. И наконец, живая вакцина вводится естественным путем — через рот, что в значительной мере облегчает ее применение. Недостатком живых вакцин является необходимость постоянного контроля над генетической стабильностью вакцинного штамма.

Для пассивной профилактики полиомиелита применяют человеческий иммуноглобулин.

21.1.1.1.2. Вирусы Коксаки

Впервые выделены в 1948 г. Г. Долдорфом и Г. Сиклсом в местечке Коксаки (США) из кишечника детей с полиомиелитоподобными заболеваниями путем инфицирования мышей-сосунков.

Антигены. Известно 30 серотипов Коксаки-вирусов, из которых 24 относятся к группе А и 6 — к группе В. Вирусы групп А и В имеют общий комплементсвязывающий антиген и различаются по типоспецифическим антигенам в реакции нейтрализации. Некоторые штаммы вирусов Коксаки обладают гемагглютинирующими свойствами в отношении эритроцитов человека группы О, вследствие чего они могут быть идентифицированы в РТГА.

Патогенез и иммунитет. Вирусы Коксаки А характеризуются сравнительно высокой миотропностью, так как у мышей-сосунков вызывают вялые параличи, а у выживших животных наблюдается мышечная дегенерация. У людей они встречаются при различных клинических синдромах, сопровождающихся лихорадкой и менингеальными явлениями. Вирусы Коксаки А были выделены при: а) диарее у детей; б) герпангине, сопровождающейся высыпаниями на задней стенке глотки, головными болями; в) пузырчатке полости рта и конечностей; г) асептическом серозном менингите и других заболеваниях.

Вирусы Коксаки В характеризуются более высокой нейротропностью. У новорожденных мышей вызывают энцефаломиелит. Выделяются при асептическом серозном менингите, миокардите и энцефаломиокардите у детей до 3-летнего возраста. Вирусы обеих групп

могут вызывать у детей и взрослых полиомиелитоподобные заболевания, острые респираторные и кишечные инфекции у детей. В целом для вирусов Коксаки характерен полиорганный тропизм.

После перенесения заболевания остается напряженный типоспецифический иммунитет. В сыворотке крови сохраняются вируснейтрализующие антитела в течение многих лет. Комплементсвязывающие антитела исчезают через несколько месяцев.

Вакцинопрофилактика не применяется.

21.1.1.1.3. Вирусы ЕСНО

Название представляет собой аббревиатуру, состоящую из первых букв английских слов: *enteric cytopatogenic human orphans* — «кишечные цитопатогенные вирусы-сироты человека». Впервые были изолированы из фекалий людей в 1951–1953 гг. Дж. Мельником и др. Поскольку их роль в патологии человека оставалась неизвестной, они были названы вирусами-«сиротами».

В отличие от вирусов полиомиелита и Коксаки вирусы ЕСНО не патогенны для лабораторных животных

Антигены. Известно 34 серотипа вирусов ЕСНО, имеющих общий комплементсвязывающий антиген. Они дифференцируются в реакции нейтрализации.

Некоторые серотипы вирусов ЕСНО способны агглютинировать эритроциты человека 0 группы крови.

Патогенез и иммунитет. Вирусы ЕСНО, подобно вирусам Коксаки, являются возбудителями различных заболеваний, преимущественно детского возраста. Многие серотипы вирусов способны поражать ЦНС, вызывая полиомиелитоподобные заболевания, асептический менингит, иногда энцефалит. Эпидемические вспышки серозного менингита, вызванного вирусами Коксаки и ЕСНО водного происхождения, встречаются в последние годы в Хабаровском крае и других регионах Дальнего Востока, в Ленинградской области. Описаны вспышки внутрибольничного ЕСНО-вирусного энцефалита в палатах для новорожденных детей с летальным исходом. Некоторые штаммы вызывают воспалительные процессы в поперечно-полосатых мышцах, проявляющиеся в виде эпидемической миалгии, миокардита. Возможны поражения кишечника (гастроэнтериты), респираторного тракта (ОРЗ у детей), сосудистой оболочки глаза (увеит), паренхиматозных органов. Нередко вирусы ЕСНО вызывают заболевания, сопровождающиеся лихорадкой и сыпью.

После перенесения заболевания формируется гуморальный типоспецифический иммунитет, продолжительность которого колеблется в разных пределах.

Специфическая профилактика и лечение ЕСНО-вирусных инфекций не разработаны.

21.1.1.1.4. Энтеровирус типа 70

Данный серотип является возбудителем острого эпидемического геморрагического конъюнктивита. Вспышки этого заболевания были впервые зарегистрированы в 1969 г. Они получили распространение в различных странах Африки и Юго-Восточной Азии, а также в Японии, Индии, Англии, Нидерландах, Бельгии, Югославии. Известны случаи заболевания в нашей стране. Этот вид имеет склонность к пандемическому распространению

Заболевание характеризуется субконъюнктивальными кровоизлияниями различной выраженности. Возможно развитие кератита. В неосложненных случаях заболевание заканчивается в течение недели. Иногда развиваются осложнения со стороны ЦНС, сопровождающиеся вторичным подъемом температуры, болями в области корешков спинномозгового нерва, слабостью мышц конечностей, парезами лицевого или языкоглоточного нервов.

Вирус репродуцируется в культурах почечных клеток и фибробластов человека с выраженным ЦПД при оптимальной температуре 33°С. Имеются данные об эволюционных связях энтеровируса-70 с вирусами Коксаки А-7 и А-14. Выявлена нейротропность для обезьян, а также способность поражать двигательные нейроны спинного мозга человека.

Вакцинопрофилактика не разработана.

21.1.1.1.5. Энтеровирус типа 71

Данный серотип был впервые выделен в 1970–1972 гг. в США от больных асептическим менингитом и энцефалитом. В 1975 г. этот вирус вызвал эпидемию полиомиелитоподобной инфекции в Болгарии. В дальнейшем вспышки заболевания были зарегистрированы в ряде стран Европы и Америки. По своим свойствам энтеровирус-71 занимает промежуточное положение между полиовирусами и нейротропным штаммом вируса Коксаки А-7. Он с трудом адаптируется к культурам клеток и, подобно вирусам Коксаки А, патогенен для новорожденных белых мышей.

В нашей стране разработана эффективная инактивированная вакцина.

21.1.1.1.6. Энтеровирус типа 72

Классифицирован как возбудитель гепатита А (*см. 21.3*).

21.1.1.1.7. Лабораторная диагностика энтеровирусных инфекций

Лабораторная диагностика энтеровирусных инфекций проводится путем выделения вируса из организма больного, а также по нарастанию титра вирусспецифических антител. Вирусы вы-

деляют из фекалий, крови, смывов носоглотки и другого материала в зависимости от периода заболевания одновременно на первичных и перевиваемых культурах клеток, а также путем заражения мышей-сосунков. Для идентификации вируса применяется реакция нейтрализации.

Гемагглютинирующие варианты вирусов ЕСНО и Коксаки можно идентифицировать с помощью РТГА, которая, подобно реакции вируснейтрализации, характеризуется типоспецифичностью.

Выделение энтеровирусов из организма больного, особенно из фекальных масс, не является абсолютным основанием для постановки диагноза, учитывая распространение бессимптомного носительства. Поэтому необходима серологическая диагностика с использованием парных сывороток, взятых в первые дни и на 2–3 неделе после начала заболевания. В положительном случае отмечается нарастание титра антител во второй сыворотке не менее чем в 4 раза в реакциях нейтрализации, РСК, РТГА.

21.1.1.2. Риновирусы

Эта группа вирусов впервые была выделена в 1960 г. от людей, больных острым ринитом.

Вирионы риновирусов имеют сферическую форму и кубический тип симметрии, достигая 20–30 нм в диаметре. Они похожи на энтеровирусы, но в отличие от них теряют свои инфекционные свойства в кислой среде. Хорошо сохраняются при низких температурах.

Для культивирования риновирусов используют культуру клеток, приготовленную из фибробластов легких эмбриона человека или эпителия трахеи человека и хорьков. В оптимальных условиях культивирования проявляется ЦПД.

Выделено более 100 серотипов риновирусов, вызывающих острые респираторные инфекции. Многие из них имеют идентичные антигены, ответственные за перекрестные серологические реакции. Они не обладают гемагглютинирующими свойствами.

Патогенез и иммунитет. Заражение происходит воздушно-капельным путем. Риновирусы локализуются в эпителиальных клетках слизистой оболочки носа, а у детей — и бронхов, вызывая насморк, бронхиты и бронхопневмонии.

После заболевания сохраняется непродолжительный иммунитет, который определяется не столько сывороточными антителами, сколько секреторными иммуноглобулинами типа IgA. Специфическая профилактика не разработана.

Лабораторная диагностика основана на выделении вируса в чувствительных культурах клеток. Для экспресс-диагностики применяется иммунофлюоресцентный метод, который позволяет обнаружить

вирусный антиген в цитоплазме эпителиальных клеток слизистой оболочки.

21.1.1.3. Афтовирусы

К роду афтовирусов относится вирус ящура — возбудитель высококонтагиозного заболевания парнокопытных домашних животных, вирусная природа которого была установлена еще в 1898 г. Ф. Леффлером и П. Фрошем. Вирус ящура мало чем отличается от других пикорнавирусов. Существует 7 серотипов вируса ящура, отличающихся друг от друга типоспецифическими антигенами.

Патогенез. Вирус репродуцируется в средних слоях эпителия кожи и слизистых оболочек. Затем проникает в кровь, вызывая вирусемию. При этом может произойти поражение миокарда и паренхиматозных органов.

После перенесения заболевания сохраняется непродолжительный типоспецифический иммунитет (около 1–1,5 лет).

Эпидемиология. Источником инфекции являются больные животные. Человек заражается главным образом при уходе аз ними, реже — при употреблении в пищу зараженных продуктов (сырого молока и мяса) без достаточной термической обработки.

Вирус ящура в течение 2 мес. сохраняется в некоторых пищевых продуктах (масле, жирах), а также в сгустках крови и костном мозге погибших животных.

Лабораторная диагностика. Исследуемый материал (содержимое везикул) вводится в кожу стопы морской свинки. Через 24–48 ч в месте введения, а также в полости рта появляются везикулы. Вирус можно выделить в культуре клеток. Серодиагностику проводят в реакции вируснейтрализации и РСК с парными сыворотками.

21.1.2. Семейство калицивирусов (Caliciviridae)

Калицивирусы ранее относили к пикорнавирусам. У этих вирусов отсутствует внешняя оболочка. Они имеют икосаэдральный капсид. Геном представлен молекулой плюс-РНК. Калицивирусы отличаются от пикорнавирусов своеобразной морфологической особенностью, заключающейся в наличии 32 чашеобразных углублений на поверхности капсида, которые располагаются в соответствии с кубической симметрией. Отсюда и название (лат. *calix* — чаша).

Патогенным для человека является вирус Норфолк, который выявлен с помощью электронной микроскопии в фекалиях детей, больных острым гастроэнтеритом, а также у свиней и телят.

В настоящее время в состав данного семейства включен вирус гепатита Е.

21.1.3. Семейство реовирусов (Reoviridae)

Название семейства расшифровывается согласно первым буквам английских слов: *respiratory enteric orphan viruses* — респираторные, кишечные вирусы-«сироты».

Многочисленные представители этого семейства широко распространены в природе. Они поражают как млекопитающих, так и птиц, насекомых и растения. Патогенные для человека реовирусы относятся к трем родам: собственно реовирусы, ротавирусы, орбивирусы. Они объединены в одно семейство на основании структуры вириона, в котором содержится двунитевая фрагментированная РНК, окруженная капсидом с двухслойной оболочкой (внутренний и наружный капсид). РНК связана с вирусоспецифической транскриптазой.

21.1.3.1. Реовирусы

Структура и химический состав. Вирионы сферической формы, в диаметре 60–80 нм (рис. 21.2). Капсид построен по икосаэдрическому типу симметрии. Двунитевая РНК состоит из 10 фрагментов, каждый из которых является отдельным геном. В составе внутреннего и наружного капсидов обнаружено до 8 отдельных белков. Один из белков наружного капсида ответствен за связывание со специфическим клеточным рецептором. Он в то же время является гемагглютинином, представляющим собой типоспецифический антиген. С помощью другого белка вирус проникает в клетку хозяина. Вирусспецифическая РНК-полимераза (транскриптаза) освобождается только после разрушения наружного капсида протеолитическими ферментами.

Культивирование и репродукция. Реовирусы культивируют в различных первичных и перевиваемых культурах клеток. ЦПД появляется поздно и напоминает неспецифическую дегенерацию клеточного монослоя.

Рис. 21.2. Реовирусы.
Слева — негативный контраст; справа — ультратонкий срез.
Видны капсомеры и сердцевина вириона. ЭМ. Ув. 200 000

После проникновения вириона в клетку путем эндоцитоза происходит его частичная депротеинизация в составе эндоплазматической вакуоли, заканчивающаяся потерей наружного капсида. При этом освобождается «сердцевина» вириона и начинает функционировать РНК-транскриптаза. На одной нити каждого фрагмента двунитевой РНК синтезируется плюс-нить, выполняющая функцию *и*РНК. Эти же плюс-нити являются матрицами для синтеза минус-нитей, что приводит к образованию вирионной двунитевой РНК, состоящей из плюс- и минус-нитей.

Вирусные белки синтезируются на клеточных рибосомах, которые объединяются одной *и*РНК в вирусспецифические полисомы.

Цикл репродукции продолжается 14 и более часов. В одной клетке образуется до 1000 вирусных частиц. Выход вирусных частиц происходит путем «взрыва», сопровождающегося лизисом клетки.

Антигены. Различают три серотипа реовирусов. Они имеют общий комплементсвязывающий антиген и типоспецифические антигены (белок наружного капсида), которые выявляются в реакции нейтрализации. Все три типа обладают гемагглютинирующими свойствами.

Патогенез и иммунитет. Реовирусы первично репродуцируются в эпителиальных клетках слизистой оболочки рта, глотки и тонкой кишки, регионарных лимфатических узлах, откуда проникают в лимфу и кровь.

Реовирусная инфекция характеризуется поражением респираторного или кишечного тракта. Особенно тяжело протекает инфекция у новорожденных и детей до 6-месячного возраста, у которых возникают пневмония и энцефалит. Доказана способность реовирусов проходить через планцету и оказывать эмбриопатическое действие.

После перенесения инфекции синтезируются вируснейтрализующие, комплементсвязывающие антитела и антигемагглютинины. Вируснейтрализующие антитела ко всем трем типам вируса обнаруживаются почти в 100% случаев.

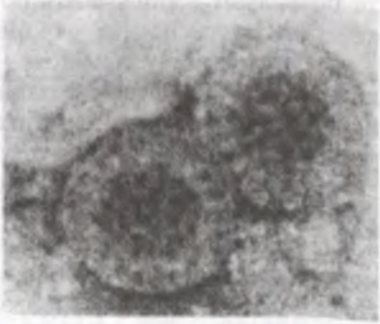
Экология и эпидемиология. Реовирусы способны в естественных условиях вызывать заболевание у различных животных: грызунов, кошек, собак, крупного рогатого скота, свиней, овец, обезьян. Распространено бессимптомное носительство вируса. Выделенные от человека и животных реовирусы идентичны по антигенным и биологическим свойствам, что закономерно ставит вопрос о роли животных в инфицировании человека.

Основной путь передачи — воздушно-капельный. По-видимому, важное значение имеет и алиментарный способ заражения, особенно с инфицированными пищевыми продуктами.

Реовирусы примерно в такой же степени, как и энтеровирусы, устойчивы к физическим и химическим факторам.

Вакцинопрофилактика не производится.

Рис. 21.3. Ротавирус.
ЭМ. Ультратонкий срез. Ув. 400 000



Лабораторная диагностика. Для выделения вируса из организма больных используют культуру клеток и новорожденных мышей. Идентификацию выделенного штамма проводят в реакции нейтрализации и РТГА, серологическую диагностику — в РТГА.

21.1.3.2. Ротавирусы

Название рода связано со своеобразием морфологии вирионов (лат. *rota* — колесо).

Возбудитель был обнаружен впервые в 1973 г. в эпителиальных клетках слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки детей с острым гастроэнтеритом.

Структура и химический состав. Вирионы ротавирусов при электронно-микроскопическом исследовании имеют вид колес диаметром 70 нм с круговым ободком по периферии и отходящими от него внутрь «спицами» (рис. 21.3). Они, так же как и реовирусы, окружены наружным и внутренним капсидом, внутри которого содержится двунитевая фрагментированная РНК. Наряду с двухкапсидными встречаются однокапсидные вирионы. В отличие от реовирусов наружный капсид разрушается не протеазами, а β-галактозидазой. Образующиеся при этом субвирусные однокапсидные структуры теряют инфекционные свойства. В составе ротавирусных частиц обнаружено до 10 структурных полипептидов и РНК-транскриптаза.

Культивирование и репродукция. Ротавирусы человека в отличие от ротавирусов животных плохо адаптируются к культуре клеток. Однако их культивируют в роллерных культурах первичных и перевиваемых почечных клеток зеленых мартышек. ЦПД характеризуется уплотнением и округлением клеток, объединением их в конгломераты, соединенные между собой тяжами. Процесс репродукции ротавирусов протекает так же, как и у других реовирусов.

Антигены. По антигенному составу ротавирусы человека и животных очень близки между собой. Их перекрестные антигенные свя-

зи позволяют использовать ротавирус телят (Небраски) и обезьян в качестве антигена для серологической диагностики ротавирусной инфекции, а также для получения диагностических сывороток. По антигенным свойствам ротавирусы разделены на 3 подгруппы и 4 серотипа. Перекрестные антигенные связи между ротавирусами, реовирусами и орбивирусами не обнаружены. Гликопротеин наружного капсида ротавирусов определяет их гемагглютинирующие свойства и типовую антигенную специфичность.

Патогенез. Ротавирусы являются возбудителями гастроэнтеритов новорожденных и детей более старшего возраста. У взрослых наблюдаются легкие формы заболевания. Первичная репродукция вируса происходит в цитоплазме энтероцитов тонкой кишки. При этом микроворсинки щеточной каймы клеток укорачиваются, становятся неровными или полностью исчезают. Нарушается процесс всасывания простых сахаров. Воспалительные явления усиливают перистальтику кишечника, что способствует развитию диарейного синдрома и появлению рвоты.

Иммунитет. В организме больных вначале появляются антитела класса IgM, которые через 2–3 недели сменяются IgG.

Существенное значение в местном иммунитете принадлежит секреторным иммуноглобулинам IgA. Вируснейтрализующие антитела класса IgG способны проходить через плаценту. Они играют определенную роль в создании пассивного иммунитета в первые 6 мес. после рождения ребенка. Комплементсвязывающие антитела быстро исчезают после перенесения заболевания, вируснейтрализующие сохраняются десятилетиями.

Эпидемиология. Источником заражения являются больные с острой и бессимптомной формами инфекции, а также вирусоносители. Механизм заражения фекально-оральный. Наиболее опасны больные в первые 3–5 дней заболевания, когда в фекальных массах накапливается максимальное количество вируса. Через 7–8 дней после начала заболевания выделение вируса прекращается.

Ротавирусы обладают сравнительно высокой устойчивостью к физическим и химическим факторам внешней среды.

Ротавирусы вызывают в 40–60% случаев острый гастроэнтерит у детей в возрасте от 1 года до 6 лет, а также внутрибольничные вспышки гастроэнтерита в палатах для новорожденных. Реже заболевание регистрируется у подростков 10–12 лет. По данным ВОЗ, во всем мире от ротавирусного гастроэнтерита ежегодно погибают от 1 до 3 млн. детей.

Профилактика проводится в ряде стран путем иммунизации детей инактивированной вакциной.

Лабораторная диагностика. Проводится путем выявления вируса в фекальных массах больных в 1-ю неделю заболевания, с од-

ной стороны, и регистрации нарастания титра антител в парных сыворотках от больных — с другой.

Ротавирусы обнаруживаются в фекальных массах в 100% случаев в первые дни заболевания с помощью иммунной электронной микроскопии.

Вирусный антиген в фекалиях выявляют иммуноферментным и радиоиммунным методами, в реакции иммунофлюоресценции, а также с помощью нуклеиновых зондов.

Вирусы могут быть выделены в культурах клеток в первые дни болезни.

Серологическую диагностику проводят в реакциях нейтрализации вируса в культуре клеток, РСК, а также в РТГА с эритроцитами человека группы 0. В качестве диагностикума используют ротавирусы обезьян или телят.

21.1.3.3. Орбивирусы

По свойствам, химическому составу орбивирусы очень похожи на реовирусы. Название обусловлено сходством внутреннего слоя капсида, состоящего из 32 капсомеров, с кольцом (лат. *orbis* — кольцо). Орбивирусы были выделены из экологической группы орбивирусов, передающимися клещами, комарами, москитами. Патогенными для человека являются вирус кемеровской лихорадки и вирус колорадской лихорадки.

21.1.4. Семейство ретровирусов (Retroviridae)

Ретровирусы — обширное семейство вирусов, выделенных от млекопитающих и человека. Название связано с ферментом обратной транскриптазой, который содержится в составе вирионов и является катализатором обратной транскрипции.

Семейство ретровирусов включает три подсемейства: Oncoviridae, Spumaviridae и Lentiviridae. Характеристика подсемейства онковирусов будет дана ниже (*см. 21.4*).

П о д с е м е й с т в о с п у м а в и р у с о в (лат. *spuma* — пенящий) объединяет группу сравнительно мало изученных ретровирусов, вызывающих слияние клеток. Культура клеток при этом приобретает особый, как бы вспененный вид. Эти вирусы выделены от различных млекопитающих, а также от человека. Однако их патогенность для людей не установлена.

Особое место среди ретровирусов занимают представители п о д с е м е й с т в а л е н т и в и р у с о в — возбудителей медленных (лат. *lente* — медленно) смертельных инфекций овец и лошадей, сопровождающихся поражением ЦНС, легких, суставов, анемией. Наиболее распространенным и изученным лентивирусом

животных является вирус висны–мэди овец и людей. К этому же подсемейству относится вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), вызывающий СПИД — синдром приобретенного иммунодефицита.

Все ретровирусы имеют ряд общих свойств. Их вирионы размерами 90–120 нм имеют сложную структуру. Капсид, построенный по кубическому типу симметрии, снаружи окружен липопротеиновой внешней оболочкой с шиповидными отростками. В составе ретровирусов содержится до 2% РНК, около 65% белков (5–8 различных полипептидов), около 30% липидов и 2% углеводов.

Ретровирусы имеют диплоидный геном, представленный двумя идентичными копиями однонитевой РНК, соединенными на одном из концов водородными связями. С вирусным геномом ассоциирована вирусспецифическая обратная транскриптаза, необходимая для образования ДНК-провируса, интегрирующего в клеточный геном. Выход зрелых вирионов из клетки происходит путем почкования от наружной клеточной мембраны.

Представители отдельных подсемейств имеют общие нуклеотидные последовательности и перекрестные антигенные связи.

21.1.4.1. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ)

В 1981 г. в США у мужчин гомосексуалистов впервые была выявлена новая болезнь, названная синдромом приобретенного иммунодефицита человека (СПИД).

В 1982 г. американский исследователь Р. Галло высказал предположение, что причиной развития СПИДа является вирус из семейства ретровирусов. К этому времени Р. Галло и его сотрудники уже выделили два Т-лимфотропных ретровируса человека при использовании разработанной ими техники культивирования Т-лимфоцитов in vitro. Один из них — HTLV-I (Human T-lymphotropic virus type 1) — является возбудителем редкого, но злокачественного Т-лейкоза человека. Второй вирус, обозначенный HTLV-II, также вызывает Т-клеточные лейкозы и лимфомы.

В 1983 г. из кусочка ткани увеличенного лимфатического узла больного лимфоаденопатией Л. Монтанье, Ф. Барре-Синусси с группой сотрудников Пастеровского института в Париже выделили еще один ретровирус человека с избирательной тропностью к Т4-лимфоцитам. Дальнейшие исследования показали, что новый ретровирус вызывал деструкцию инфицированных клеток с последующей их гибелью в отличие от вирусов HTLV-I HTLV-II, которые трансформируют Т-клетки, приводя к их бесконтрольной пролиферации.

В 1986 г. Международный комитет по таксономии вирусов присвоил новому вирусу название *Human immunodeficiency virus* (HIV) — вирус иммунодефицита человека. С этого времени длительно протекающее инфекционное заболевание человека, вызванное ВИЧ, стали

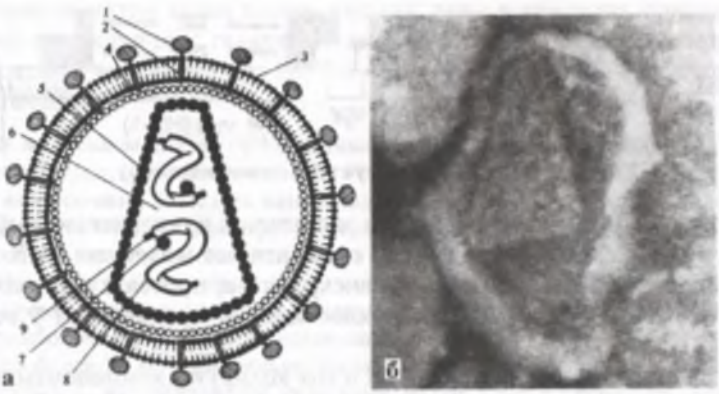


Рис. 21.4. ВИЧ.
а — структура (схема): 1 — gp120; 2— gp41;
3 — липидная двухслойная мембрана; 4 — P24/25; 6 — сердцевина;
7 — обратная транскриптаза; 8 — p9, p7; 9 — РНК;
б — ЭМ. Ув. 300 000. Видна сердцевина и оболочка

называть ВИЧ-инфекцией, а термин СПИД сохранили для обозначения последней, терминальной стадии этого заболевания.

Более 90% случаев инфицирования в мире связанны с вирусом иммунодефицита человека первого типа, который является этиологической причиной глобальной пандемии. Вирус иммунодефицита второго типа (ВИЧ-2) эндемичен для Западной Африки и весьма редко встречается в остальных странах мира. ВИЧ-2 имеет генетическую гомологию с ВИЧ-1 на уровне 50% и вызывает аналогичное заболевание, которое имеет более доброкачественное и продолжительное течение.

Структура и химический состав. По структуре ВИЧ-1 и ВИЧ-2 близки к другим лентивирусам. Вирион ВИЧ имеет сферическую форму 100-200 нм в диаметре. Внешняя оболочка вирионов образована двойным липидным слоем, который заимствован вирионом из мембраны клетки хозяина при завершении цикла репликации и выходе из клетки (рис. 21.4).

В оболочке вирионов находится гликопротеиновый комплекс вируса, состоящий из двух субъединиц (gp41, gp120) с нековалентной связью между ними. Трансмембранный белок gp41 пронизывает оболочку вируса, второй белок — gp120 формирует отростки («шипы») на поверхности вирионов.

С внутренней стороны липидной оболочки расположен матриксный каркас, образованный белком p17/18. Сердцевина вириона цилиндрической или конусовидной формы, образованна капсидным

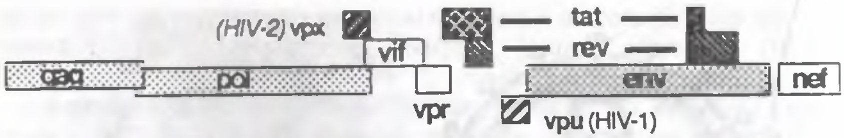


Рис. 21.5. ВИЧ. Структура генома (схема)

белком p24. В сердцевине вируса заключены нуклеокапсидный протеин p7/p9, геном вируса — две однонитевые молекулы РНК и три вирусных энзима — обратная транскриптаза, протеаза и интеграза.

Геном ВИЧ содержит 10^4 нуклеотидов и представлен 9 генами (рис. 21.5).

Три структурных гена gag, pol u env кодируют компоненты вирусных частиц: ген gag — внутренние группоспецифические белки вириона, входящие в состав сердцевины и капсида (p24, p7/9, p17), ген env — типоспецифические белки, входящие в состав внешней оболочки (gp41 и gp120), ген pol — белки вирусных энзимов.

В геноме ВИЧ имеется также шесть регуляторных генов, кодирующих небольшие протеины, участвующие в системе регуляции деятельности структурных генов. ВИЧ-1 и ВИЧ-2 имеют гены tat, rev, nef, vif, vpr. Кроме того, ВИЧ-1 имеет также ген vpu, а ВИЧ-2 — ген vpx.

В пределах общей длины генома гены частично перекрываются с соседними, два гена tat u rev состоят каждый из двух отрезков, довольно далеко отстоящих друг от друга.

Tat протеин — трансактиватор транскрипции, необходим для биосинтеза полноразмерного транскрипта вирусной РНК, он увеличивает скорость транскрипции как структурных, так и регуляторных вирусных белков в десятки раз. Rev протеин обеспечивает транспорт из ядра несплайсированной или однократно сплайсированной вирусной РНК в цитоплазму, где с нее транслируются Gag/Pol или Env протеины. В отсутствии продукта гена rev структурные белки вообще не образуются.

Важность Nef протеина была очевидна с самого начала его открытия, однако функциональное предназначение продолжает обсуждаться. По одним из последних данных, функция протеинов Nef и Vpu направлена на снижение экспрессии клеточных CD4 рецепторов в инфицированной клетке.

Tat, Rev и Nef белки не входят в состав вириона , но являются первыми вирусными компонентами, которые синтезируются в процессе цикла репликации вируса.

Отличительной чертой ретровирусов вообще, и ВИЧ в частности, является высокая изменчивость по сравнению с диапазоном изменчивости других вирусов. Именно применительно к ретровирусам было

введено понятие квази видов, так как даже в пределах одного организма последующие генерации вируса отличаются от родительских. Вероятность мутации для ВИЧ-1 оценивается как 10^{-4}—10^{-5} на цикл репликации.

В жизненном цикле ВИЧ точечные мутации могут происходить на стадии обратной транскрипции с геномной РНК на «минус»-цепь ДНК, на этапе синтеза «плюс»-цепи ДНК при возникновении провируса и, наконец, при транскрипции РНК с ДНК провируса. Делеции и вставки тоже возможны, однако вероятную частоту их возникновения оценить сложно.

Наиболее высокая изменчивость состава нуклеотидов характерна для гена env. Степень изменчивости неодинакова в разных участках молекулы кодируемого оболочечного белка. В молекулах белков оболочки gp120 и gp41 картировано более 20 функционально значимых последовательностей (сайтов или эпитопов). С вариабельными участками gp120 V1–V3 связывают фенотипические свойства вируса, а также тропность к хемокиновым рецепторам, с гипервариабельным участком V3 — иммунный ответ и возможность вируса «ускользать» от прессинга иммунной системы. Для узнавания рецептора CD4 и связывания с ним важны три разные области gp120. Когда молекула gp120 находится в пространственной конфигурации, эти области сближены, образуя полость, соответствующую рецептору CD4.

Систематизация генетического разнообразия ВИЧ-1 на основании анализа нуклеотидных последовательностей генов env и gag была осуществлена по положению различных штаммов на бескорневом филогенетическом дереве. Циркулирующие в разных регионах мира штаммы ВИЧ-1 сгруппированы в две разные группы. К первой большой группе М (major) принадлежит большинство известных эпидемических штаммов. Внутри М группы классифицировано, по крайне мере 10 генетических субтипов, каждый из которых обозначен буквами английского алфавита от A до J. Различие в нуклеотидной последовательности V3 области генов env изолятов, принадлежащих к одному субтипу, составляет 5–15%, в то время как между разными субтипами — 16–30%. Отличия в геномах вирусов от одного пациента в динамике заболевания, как правило, не превышают 5%, а от разных людей 0,5 –0,4%.

Большой вклад в изучение эволюции ВИЧ-1 вносят открытые в последние годы рекомбинантные формы вируса, которые явились причиной крупнейшей эпидемии среди гетеросексуальной популяции в Таиланде (Е/А рекомбинант) и локальных эпидемий среди наркоманов в двух провинциях Китая (В/С рекомбинант) и в Калининградской области в России (А/В рекомбинант).

Помимо группы М в 1994 г. от пациентов Африканского происхождения была идентифицирована другая небольшая группа высокодивергентных штаммов ВИЧ-1 — группа «О» (англ. *Outliner* — в стороне). Различия в последовательности нуклеотидов вирусов группы О в целом по сравнению с группой М составляют около 35%, а по гену env — 56%.

Достижения в области исследований генома ВИЧ стимулировали развитие исследований по молекулярной эпидемиологии ВИЧ-инфекции.

Антигены. Антигенными свойствами разной степени выраженности обладают белки, кодируемые всеми генами ВИЧ. Антительный ответ к продуктам структурных генов является высокоактивным, особенно к белкам генов env и gag. Высоко антигенным является так же Nef протеин. Белки остальных регуляторных генов в антигенном отношении средне- (гены vpr и vpu) или низко- (гены vpx, vif, rev, tat) активны.

Антитела к антигенным эпитопам молекул структурных белков ВИЧ в сыворотках серопозитивных пациентов выявляются с неодинаковой частотой. Только к одному эпитопу, который локализован в молекуле gp41 (иммунодоминантный В клеточный эпитоп), антитела имеются практически у всех ВИЧ-инфицированных людей.

Ведутся исследования по построению классификационной системы ВИЧ-1 на основе антигенных свойств вируса. Сюда относится определение серотипа вируса путем выявления антител в сыворотках инфицированных пациентов иммуноферментным методом с помощью многокомпонентных панелей синтетических пептидов, имитирующих эпитопы ВИЧ.

Сыворотки от пациентов, инфицированных ВИЧ-2, с антигенами ВИЧ-1 в серологических реакциях могут давать положительный или неопределенный результат.

Выработка наиболее важных нейтрализующих антител связана с так называемой принципиальной детерминантой нейтрализации (PND), расположенной в гипервариабельном домене молекулы gp120 (V3 петля). К этому эпитопу направлены изолят-специфичные ранние антитела. Однако вследствие высокой генетической изменчивости ВИЧ эти антитела могут не нейтрализовать in vitro варианты вируса от того же пациента через 6 и более мес. В то же время эти изоляты могут реагировать с антителами сывороток от других ВИЧ-инфицированных пациентов, если эти сыворотки содержат широкий спектр нейтрализующих антител. Предполагается, что функция нейтрализующих антител заключается в блокировании связывания вирусного gp120 с хемокиновым клеточным рецептором. Однако, как показало изучение пространственных моделей белка gp120, эти области для антител малодоступны. Определение иммунотипа вируса является важной характеристикой, имеющей отношение к теории и практике разработки вакцины против ВИЧ. Под этим понимается изучение in vitro в культуре клеток способности нейтрализующих антител (гомо/гетеро или моноклональных) угнетать репликацию первичных (клинических) вирусных изолятов.

В пределах PND также идентифицированы эпитопы, распознаваемые цитотоксическими Т-лимфоцитами эффекторами, а также эпитопы, связанные с антителами, опосредующими антителозависимую клеточную цитотоксичность.

Культивирование и репродукция. Стандартная методика изоляции ВИЧ включает:

1) получение фракции мононуклеарных клеток из образца периферической крови (МПК) инфицированного пациента в градиенте фикола;

2) сокультивирование полученных МПК с предварительно обработанными фитогемагглютинином МПК доноров при 37° в атмосфере CO_2;

3) добавление донорских МПК каждые 3–5 дней в зависимости от жизнеспособности культивируемых клеток;

4) определение маркеров репликации вируса с 3-го дня культивирования клеток через каждые 3–4 дня.

Опыт, как правило, продолжают до 28-го дня. В случае положительного результата для дальнейшего изучения фенотипа вируса вируссодержащим супернатантом с МПК (первичная культура вируса) заражают перевиваемые Т-клеточные лимфобластоидные линии, экспрессирующие на своей поверхности рецепторы CD4.

Для идентификации репликации вируса в МПК и культурах перевиваемых клеток используют определение активности обратной транскриптазы, р24 антигена вируса или его РНК, а также выявление цитопатогенного эффекта. Характер проявлений цитопатогенного эффекта может быть различным — дегенерация и гибель клеток, формирование синцития, декластрирование кластерных линий клеток и др.

Ученым понадобилось более 10 лет, чтобы доказать, что для связывания gp120 с клеточной мембраной помимо CD4 рецептора необходимо участие дополнительных ко-рецепторов. Этими ко-рецепторами оказались рецепторы к хемокинам.

На функциональном уровне штаммы ВИЧ отличаются по тропизму к указанным рецепторам и дифференцируются на макрофаготропные и Т-лимфоцитотропные. Имеются вирусы с двойной тропностью. Отношение вируса к хемокиновым рецепторам положено в основу последней классификации вируса иммунодефицита человека первого типа.

В культурах мононуклеарных клеток периферической крови М-тропные вирусы имеют низкий уровень репликации, не образуют синцитии (фенотип «slow/low»), Т-тропные вирусы — имеют высокий уровень репликации и образуют синцитии (фенотип «rapid/high»). Исследования первичных изолятов показывают, что по мере прогрессирования ВИЧ-инфекции происходит шифт от М- к Т-тропным изолятам, сопровождающийся сменой фенотипа вируса.

Жизненный цикл вируса в Т4 лимфоцитах начинается со взаимодействия вирусного белка gp120 с клеточным рецептором CD4 (рис. 21.6 a). После этого полученный комплекс через специфический эпитоп gp120 взаимодействует с хемокиновым рецептором на клеточной мембране. В процессе образования этого комплекса происходит изменение конформации молекулы gp120 (рис. 21.6 b).

Рис. 21.6. Проникновение ВИЧ в лимфоцит путем слияния мембран. Пояснение в тексте

Вследствие этого оказывается открытой гидрофобная область gp41 (пептид слияния), которая взаимодействует с близлежащей частью клеточной мембраны. Этот процесс индуцирует слияние вирусной оболочки с плазматической мембраной клетки, в результате чего сердцевина вируса попадает внутрь клетки. Другой возможный механизм проникновения адсорбированного вируса в клетку — рецепторный эндоцитоз (рис. 21.7).

После освобождения сердцевины вириона запускается сложный механизм обратной транскрипции вирусной РНК при участии вирусного фермента обратной транскриптазы. Сначала синтезируется одноцепочечная ДНК, комплементарная вирусной РНК, затем — вторая цепь ДНК, используя первую в качестве матрицы. Двухцепочечная вирусная ДНК (провирус) проникает в клеточное ядро и благодаря активности вирусного фермента интегразы, которая разрезает ДНК-клетки хозяина, встраивается в хромосомную ДНК, сохраняясь в ней до конца жизни клетки.

Репликация ВИЧ начинается тогда, когда длинные концевые повторы на концах провирусного генома инициируют транскрипцию вирусных генов. Образование РНК-транскрипта на матрице провирусной ДНК происходит при участии клеточной ДНК-зависимой РНК-полимеразы.

Транскрибирующиеся молекулы РНК, содержащие полный геном ВИЧ, переносятся в цитоплазму и служат геномным фондом ВИЧ при формировании зрелых вирионов, а также матрицами для синтеза на клеточных рибосомах вирусных протеинов и энзимов (Gag и Pol). Эти два протеина синтезируются в цитоплазме в виде длинных полипептидных цепей белков — предшественников (p55) и «нарезаются» на индивидуальные структурные белки вирусными протеазами.

С однократно сплайсированной РНК транслируется Env белок — предшественник (gp160), который гликозилируется в эндоплазмати-

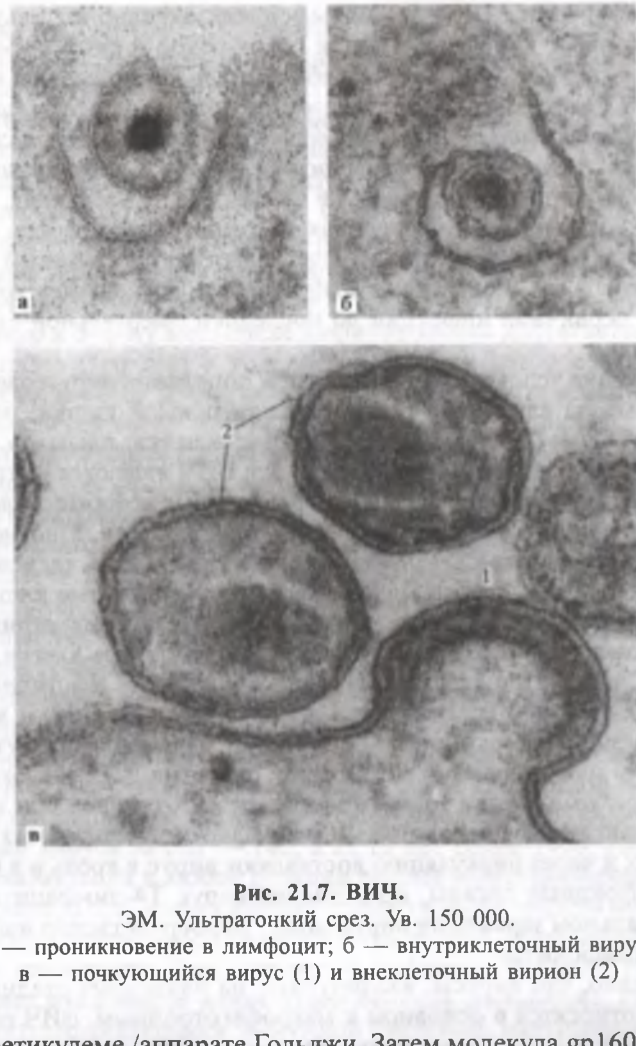


Рис. 21.7. ВИЧ.
ЭМ. Ультратонкий срез. Ув. 150 000.
а — проникновение в лимфоцит; б — внутриклеточный вирус;
в — почкующийся вирус (1) и внеклеточный вирион (2)

ческом ретикулеме /аппарате Гольджи. Затем молекула gp160 расщепляется клеточной протеазой на две молекулы gp120 и gp41.

Большинство регуляторных протеинов (Tat, Rev, Nef) транслируются с многократно сплайсированных РНК.

Сборка вирусной частицы происходит на внутренней стороне клеточной мембраны. Во время формирования вируса в него втягиваются две цепи РНК. Вирион отпочковывается от клетки, увлекая участки мембраны клетки-хозяина в том числе антигены главного комплекса гистосовместимости. При активной репликации ВИЧ идет множественное нарушение целостности мембраны, и клетка гибнет.

Таким образом, ВИЧ в Т4-лимфоцитах активно использует клеточный аппарат для транскрипции своих генов и синтеза белков.

Патогенез и иммунитет. В общем плане заболевание, вызываемое ВИЧ, может быть охарактеризовано как *иммунодефицитное состояние инфекционной природы, возникающее вследствие способности вируса паразитировать непосредственно в клетках иммунной системы*. Практически с такой же частотой, как иммунная, поражается при ВИЧ-инфекции и нервная система.

Патогенез ВИЧ-инфекции представляет собой сложный процесс многолетнего взаимодействия возбудителя с организмом хозяина от момента первичной инфекции до последней смертельной стадии заболевания.

Заражение человека происходит при попадании вируссодержащих материалов на слизистые гениталий или прямой кишки, непосредственно в кровь, а так же через инфицированную плаценту.

Прямыми клетками-«мишенями» для ВИЧ являются клетки, имеющие на своей поверхности CD4 рецепторы, которые более всего представлены на мембране Т-лимфоцитов-хелперов. Многие другие клетки также имеют CD4 рецепторы (моноциты и их тканевые формы — макрофаги, клетки Лангерганса, фолликулярные клетки лимфоузлов, альвеолярные макрофаги легких, клетки микроглии и др.). Однако известно, что ВИЧ также может инфицировать клетки, не имеющие CD4 рецепторы (астроциты, эндотелиальные и эпителиальные клетки). Новейшие исследования по изучению тропности вируса к разнообразным хемокиновым рецепторам, очевидно, внесут дополнительную информацию о механизмах развития ВИЧ-инфекции.

Дендритные клетки (особенно клетки Лангерганса при инфицировании слизистых) и моноциты / макрофаги инфицируются одними из первых и через циркуляцию доставляют вирус в кровь и в ближайшие лимфоидные органы, представляя вирус Т4-лимфацитам. При парентеральном заражении вирус может непосредственно инфицировать Т4-лимфоциты.

Показано, что вирусы, изолируемые на начальных стадиях заболевания, относятся в основном к макрофаготропным. ВИЧ реплицируется в макрофагах/моноцитах с умеренной интенсивностью и, выходя из клетки, не оказывает на нее цитолитического действия. Эти клетки являются хроническим резервуаром вируса и дополнительным фактором распространения ВИЧ в органах и тканях. В частности, инфицированные макрофаги уже на самых ранних стадиях заболевания преодолевают гематоэнцефалический барьер и переносят вирус в центральную нервную систему и др. органы.

На стадии первичной инфекции заражение Т4-лимфоцитов сопровождается взрывным всплеском вирусной репликации (2–3 недели от момента инфицирования). Это способствует дальнейшему распростра-

нению вируса в лимфоидных органах (лимфатические узлы, селезенка, миндалины). Количество Т4-лимфоцитов в крови уменьшается, а вирусная нагрузка (количество копий РНК ВИЧ) может достигать 1 млн.

Частичное купирование острой ретровирусной инфекции корректируется иммунным ответом организма в основном за счет цитотоксических лимфоцитов и нейтрализующих антител, выявляемых на 3–12 неделе (сероконверсия). Это сопровождается восстановлением числа Т4-лимфоцитов (но не до исходного уровня) и постепенным снижением уровня репликации вируса (концентрация РНК в периферической крови снижается на 3–5 lg).

Обычно к 6–8-му мес. после инфицирования достигается определенное плато (setpoint) в уровне репликации, которое отражает то равновесие, которое достигается между организмом и вирусом и заболевание переходит в стадию бессимптомной хронической инфекции. Количественные параметры этого равновесия, выражаемые количеством Т4-лимфоцитов и уровнем вирусной нагрузки, индивидуальны. Термин «бессимптомная» в названии стадии относится только к клиническим проявлениям. Репликация вируса в пределах плато продолжается, погибшие Т4 клетки еще восполняются адекватным количеством новых. Лимфатические узлы перегружены внеклеточным и внутриклеточным вирусом, что проявляется (но не у всех) персистирующей генерализованной лимфоаденопатией.

Длительность цикла репродукции одной генерации вируса 2,6 дня. Половина новых вирионов погибает каждые 6 ч, но вирусемия поддерживается постоянными, повторными циклами реинфекции и репродукции в продуктивно инфицированных Т4 клетках. Полагают, что каждый день в организме появляется 10 биллионов вирионов, число генераций вируса за год — 140, а за 10 лет более 1400. Рассчитано, что любая мутация в любой позиции генома может происходить много раз в день, а при использовании лекарственных средств может быть генерирован почти любой резистентный мутант. Продолжительность периода клинически бессимптомной инфекции для 80% пациентов составляет 8–12 лет. В конце этого периода равновесие, столь длительно поддерживавшееся иммунной системой, нарушается.

Следующая симптоматическая фаза инфекции характеризуется прогрессирующей активизацией репликации вируса, повышением содержания ВИЧ РНК в плазме, а также прогрессирующим усилением деструкции иммунной системы, проявляющимся в снижении количества Т4 клеток и дискоординацией многих других показателей. Клинические симптомы и синдромы нарастают с переходом в тяжелые прогрессирующие болезни, манифестирующие наступление собственно СПИДа. Большинство этих болезней проявляются в таких формах, которые не встречаются у человека с нормально функционирующей иммунной системой. Эти болезни, которые называются

СПИД-индикаторными, включают опухоли, инвазии, грибковые, вирусные и в меньшей степени бактериальные инфекции, вызываемые условно патогенными возбудителями.

Механизм дисфункции иммунной системы при ВИЧ-инфекции многообразен. Аномалии клеточного звена, в первую очередь, связаны с Т4-лимфоцитами. Снижение их абсолютного количества определяется не только прямым цитопатическим действием вируса. Один из механизмов состоит в том, что зараженные клетки, продуцирующие gp120, сливаются со здоровыми клетками, в мембране которых имеется антиген CD4 (образование синцитиев). Точно так же и свободный gp120, циркулирующий в крови, может связываться с CD4 молекулами неповрежденных клеток, которые распознаются иммунной системой как чужеродные и разрушаются.

Предложена гипотеза, согласно которой гибель Т4-лимфоцитов при ВИЧ-инфекции связана с физиологической гибелью клеток (апоптоз), запускаемой взаимодействием gp120 с CD4 рецепторами. Существуют и другие механизмы патогенеза ВИЧ, объясняющие гибель Т4-лимфоцитов.

Известно, что Т4-лимфоцитам отводится центральная роль в регуляции иммунного ответа, которая осуществляется через систему клеточных медиаторов-цитокинов. При ВИЧ-инфекции нарушается синтез цитокинов, продуцируемых субпопуляциями Т4-лимфоцитов (Тх-1 и Тх-2). Секреция ИЛ-2 и γ-интерферона, участвующих в реализации клеточного иммунитета, непрерывно уменьшается, а ИЛ-4 и ИЛ-10, участвующих в реализации гуморального иммунитета, — повышается.

Инфицированные ВИЧ макрофаги претерпевают ультраструктурные изменения, нарушается хемотаксис и Fc-зависимый фагоцитоз. Из-за постоянной активации мононуклеаров наблюдается гиперфункция противовоспалительных цитокинов (ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-6).

В результате нарушений в синтезе цитокинов Т-клеточного и макрофагального происхождения, регулирующих функцию В-лимфоцитов, происходит их поликлональная активация, сопровождающаяся спонтанной продукцией неспецифических иммуноглобулинов.

Одной из гипотез о ведущих патологических факторах при ВИЧ-инфекции являются аутоиммунные патологические процессы в связи с перекрестной реактивностью ряда эпитопов вирусных белков и белков организма человека.

Это лишь некоторые из множества элементов иммунопатогенеза ВИЧ-инфекции. *В целом можно сказать, что ВИЧ, внедряясь в клетки иммунной системы, или разрушает их с помощью различных механизмов или видоизменяет их функции, инициируя разнонаправленные изменения в синтезе цитокинов, что, в конечном счете, нарушает все звенья иммунитета. Это является той патологической основой, на которой развивается симптомокомплекс СПИДа.*

В то же время ВИЧ сам подвергается действию иммунной системы, поскольку в организме человека формируется защитный ответ на его внедрение. С самого начала инфекции начинается продукция специфических анти-ВИЧ-антител (сначала Ig M, а далее IgG и IgA), которая сохраняется на протяжении всех стадий болезни с некоторыми изменениями в распределении антител к отдельным белкам ВИЧ. Однако эти антитела в лучшем случае являются лишь свидетелями инфекции, а с помощью ряда механизмов могут ее даже усиливать.

Антитела к гликозилированной форме gp120 обладают вируснейтрализующими свойствами in vitro, но не контролируют развитие уже начавшейся инфекции. Одной из причин является высокий темп репродукции вируса и, как следствие, быстрота вовлечения в патологический процесс все новых клеток.

Специфическая антителозависимая клеточная цитотоксичность, осуществляемая моноцитами или нормальными киллерами в присутствии анти-ВИЧ-антител в отношении клеток, на которых экспрессированы антигены ВИЧ, достаточно выражена in vitro, однако защитное значение этого феномена не доказано.

Наиболее важным фактором, сдерживающим репликацию ВИЧ, являются Т8 цитотоксические лимфоциты, которые могут непосредственно лизировать вируссодержащие клетки или действовать опосредованно через синтезируемые ими цитотоксины (CD8 антивирусный фактор) и β-хемокины. Считают, что высокая активность Т8-лимфоцитов является основным фактором длительного сохранения фазы асимптоматической инфекции у ВИЧ-инфицированных долгожителей.

В общем итоге ответ на ключевой вопрос патогенеза ВИЧ-инфекции — чем регулируется репликация вируса — состоит в том, что эта роль отводится организму хозяина, которая реализуется через сеть эндогенных цитокинов. Противовоспалительные цитокины, свидетельствующие о хронической иммунной активации (ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-6) усиливают репликацию ВИЧ. В то же время другие цитокины, такие как ИЛ-10, ИЛ-2, ИНФ-γ, CD8 антивирусный фактор, а так же β-хемокины угнетают экспрессию ВИЧ. Все эти факторы вносят свой вклад в баланс между супрессией и репродукцией вируса, а следовательно, и в течение заболевания. Дополнительную роль играют многочисленные ко-факторы со стороны организма хозяина, вируса, а также сопутствующие оппортунистические инфекции.

Эпидемиология. Источником инфекции является ВИЧ-инфицированный человек на всех стадиях заболевания. Вирус содержится в крови, сперме, влагалищном и цервикальных секретах, в грудном молоке, которые являются факторами передачи инфекции. Предполагается, что инфицирующая доза вируса составляет около 10 тыс. вирионов. Слюна, моча, слезная жидкость также содержат вирус, но количество его недостаточно для заражения.

Пути передачи инфекции — половой, парентеральный и вертикальный.

С передачей вируса при половых контактах связано около 85–90% всех случаев ВИЧ-инфекции в мире, что позволяет отнести ВИЧ-инфекцию к группе болезней передаваемых половым путем. При этом в глобальном масштабе гетеросексуальные отношения являются причиной 70% случаев заражения, гомосексуальные — 5–10% случаев.

3–5% ВИЧ-инфекции в мире связывают с инфицированием при гемотрансфузиях. Инъекционные наркоманы составляют до 10%, причем эта цифра продолжает увеличиваться.

Вертикальная передача ВИЧ от инфицированной матери плоду в последние месяцы беременности, при рождении ребенка или при грудном вскармливании в Африканских странах происходит в 40–50% случаев, а в экономически развитых странах — 25–35%.

Эксперты полагают, что интенсивное распространение ВИЧ-инфекции в мире началось в конце 70-х годов, масштабы эпидемии уже более 10 лет расценивают как пандемию.

По данным ВОЗ, в конце апреля 1999 г. насчитывалось более 33 млн. людей, инфицированных ВИЧ, и 16,3 млн. погибших от СПИДа. В настоящее время на каждые 100 человек, находящихся в сексуально-активном возрасте (15–49 лет), приходится один носитель ВИЧ. В некоторых регионах СПИД является главной причиной смертности среди взрослого населения. С начала пандемии СПИДа было заражено около 4,8 млн. детей, из которых погибло около 3,6 млн.

В Африке, южнее Сахары, проживает две трети зараженных ВИЧ, доминирует гетеросексуальное распространение вируса. В остальных регионах мира картина эпидемического процесса смешанная. Типичной моделью является первоначальная концентрация вируса в группах с рискованным в отношении заражения ВИЧ поведением (гомосексуалисты, внутривенные наркоманы, проститутки) последующим распространением вируса через их половых партнеров в основную популяцию населения.

В России до 1996 г. вирус медленно распространялся половым путем, в равной степени гомо- и гетеросексуальным. С 1996 г. эпидемический процесс резко активизировался за счет быстрого распространения вируса среди лиц, употребляющих психоактивные вещества внутривенно.

В России на апрель месяц 1999 г. было зарегистрировано 36 133 случая ВИЧ-инфекции, из которых погибло 279 взрослых и 88 детей.

ВИЧ характеризуется сравнительно низкой устойчивостью к воздействию химических и физических факторов. Нагревание при 56^0 в течение 30 мин. приводит к снижению инфекционного титра вируса в 100–1000 раз, а более высокие температуры быстро и полностью его инактивируют. Вирус быстро погибает под воздействием дезинфицирующих веществ, используемых в лабораторной практике (70%

этиловый спирт, 3% р-р перекиси водорода, 5% р-р лизола, 0,2% р-р гипохлорита натрия и др.). ВИЧ в то же время достаточно устойчив при комнатной температуре как в сухой, так и жидкой среде (4–6 дней), а также к Уф облучению и ионизирующей радиации.

Есть основание утверждать, что СПИД — исторически новое заболевание человека, а его возбудитель сформировался за последние десятилетия. По-видимому ретровирусы иммунодефицита человека и обезьян произошли от одного и того же вируса, который в процессе эволюции в результате мутаций и рекомбинаций адаптировался либо к человеку, либо к определенным породам обезьян.

Лабораторная диагностика. Современная лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции основывается на использовании многих методов, направленных на выявление анти-ВИЧ-антител, детекцию вирусного антигена и геномного материала, а также выделение вируса.

Для практического здравоохранения по доступности, точности, простоте использования первостепенное значение имеет серодиагностика ВИЧ-инфекции, ориентированная на выявление специфических антител. Сегодня она базируется на иммуноферментном анализе (ИФА) и обеспечена тест-системами 3–4 поколений, позволяющих выявлять суммарные антитела классов IgM и IgG к ВИЧ-1 и к ВИЧ-2 с чувствительностью и специфичностью не менее 99%. Кроме классических (планшетных) тестов существуют простые/быстрые тесты, позволяющие устанавливать серостатус пациента через 10–15 мин. Конечным методом в цепи серологических исследований является иммуноблотинг, с помощью которого в испытуемых сыворотках определяют антитела к отдельным структурным белкам ВИЧ.

ПЦР-диагностика (качественное определение ДНК ВИЧ в мононуклеарах периферической крови) в сочетании с изоляцией вируса являются стандартной схемой для лабораторной диагностики инфицированности детей, родившихся от серопозитивных матерей.

Разработка метода количественного определения РНК ВИЧ-1 в крови (обратная ПЦР) и воплощение его в коммерческих тестах произвело подлинную революцию в диагностике ВИЧ-инфекции. Врачи получили возможность следить за уровнем вирусной репликации при естественном течении ВИЧ-инфекции, а также контролировать эффективность противовирусной терапии.

Химиотерапия. Целью терапии ВИЧ-инфекции является предотвращение прогрессирования болезни, с целью поддержания функции иммунной системы.

К этиотропным анти-ВИЧ лекарственным средствам относятся препараты, которые по механизму действия делятся на два класса. К первому классу относят ингибиторы обратной транскриптазы — тимидиновые (азидотимидин, ставудин) и не тимидиновые (диданозин, зальцитабин, ламивудин) модифицированные аналоги нуклеозидов.

Нуклеозидные аналоги были первыми специфическими анти-ВИЧ препаратами. Они имитируют естественные нуклеотиды и конкурируют с ними при синтезе цепей вирусной ДНК на этапе обратной транскрипции. К этому же классу относят не нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (невирапин, делавиридин и др.), которые обладают способностью непосредственно связываться с обратной транскриптазой.

Второй класс лекарственных средств включает ингибиторы другого вирусного фермента — протеазы (саквинавир и др.). Эти препараты взаимодействуют с активным центром ВИЧ-протеазы, тормозя процесс «нарезания» длинных цепочек вновь синтезированных Gag-Pol протеинов в полностью функциональные белки, что приводит к образованию незрелых неинфекционных вирусных частиц.

В настоящее время препараты обоих классов используют как компоненты комбинированной тритерапии, которая пришла на смену моно- и дитерапии. Оптимальным считается сочетание ингибитора протеазы с тимидиновым и не тимидиновым нуклеозидным аналогом, ингибитором обратной транскриптазы.

Эта терапия в клинических испытаниях позволяет снизить количество вируса в крови до уровня ниже чем 500 копий/мл, а в части случаев — ниже 20–50 копий/мл (предел чувствительности методов определения вирусной нагрузки). Это не только улучшает иммунный статус пациента, его самочувствие, но даже возвращает работоспособность (в 50–70% случаев). Однако важна непрерывность лечения, поскольку при его отмене активная репликация вируса возобновляется.

Выработка вирусом лекарственной резистентности и кросс-резистентности, сложные схемы приема лекарств и их обилие, лекарственные взаимодействия и осложнения в сочетании с очень высокой стоимостью являются причинами ограниченного применения комбинированной анти-ВИЧ терапии. Следующим этапом в терапии является разработка стратегий для санации вирусных депо: длительно живущих макрофагов, дендритных клеток, латентно инфицированных лимфоцитов в лимфоидных органах.

Важным подходом к восстановлению иммунной системы являются исследования по использованию для лечения ВИЧ-инфекции иммуномодулирующих средств: цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-10, ИЛ-12) ингибиторов фактора некроза опухоли.

В комплексную тактику лечения ВИЧ-инфекции входит также тщательное лечение и профилактика оппортунистических инфекций.

Профилактика ВИЧ-инфекции. Пандемия ВИЧ/СПИДа продолжается, при этом 90% из числа всех случаев инфицирования связаны со странами развивающегося мира, где по экономическим причинам применение дорогостоящего лечения недоступно. В связи с этим очевидна необходимость эффективной стратегии вакцинопрофилактики. Однако для исследователей с самого начала было очевидно, что ВИЧ-инфекция не похожа на другие вирусные заболевания, контролируемые вакцинацией. Хроническое течение, состояние вирусоносительства

ства, интеграция провирусной ДНК в геном клетки, заражение не только свободными вирионами, но и инфицированными клетками, высокая изменчивость вируса, неуклонное прогрессирование болезни на фоне специфического иммунного ответа, необходимость индуцирования Т-эффекторного ответа при вакцинации и обеспечение иммунитета слизистых, отсутствие лабораторных моделей — это не полный перечень проблем, которые затрудняют создание вакцины.

В то же время новые данные об обнаружении ВИЧ-инфицированных долгожителей, а также индивидуумов, которые остаются серонегативными, несмотря на неоднократную экспозицию ВИЧ (семейные пары, где один из супругов инфицирован) свидетельствуют о потенциальной возможности резистентности.

К настоящему времени на основе классических подходов и их комбинаций создано более 50 препаратов, рассматриваемых в качестве потенциальных «кандидатов» профилактических вакцин. Более 20 из них (субъединичные/рекомбинантные, пептидные, живые векторные, ДНК-вакцины и вирусоподобные частички) прошли первичные испытания на добровольцах. Наиболее перспективным представляется подход с первичным использованием живых векторных вакцин с последующей ревакцинацией субъединичными вакцинами. Из-за отсутствия единства во мнениях исследователей компромиссное решение, поддерживаемое Программой ООН/ВОЗ, состоит в продолжении фундаментальных исследований для разработки новых концепций с параллельным переходом к «полевым» испытаниям наиболее перспективных кандидатов. К таковым в первую очередь относится рекомбинантная вакцина с использованием в качестве вектора поксвирусов птиц, а также субъединичная вакцина gp120 (Vax Gen).

Другим аспектом противодействия ВИЧ-инфекции является подход к ней как социально обусловленной болезни, связанной с характером поведения человека и социально-экономическим и политическим устройством общества. На международном уровне уже показана эффективность социальных профилактических программ, включающих широкое распространение знаний о ВИЧ-инфекции, обучение безопасному половому поведению, лечение других болезней, передаваемых половым путем (ко-факторы заражения ВИЧ), анонимное тестирование и консультирование, внедрение «политики снижения вреда» среди наркоманов, организацию не только медицинской, но и социальной поддержки ВИЧ-инфицированным и их семьям, внимание к проблеме на государственном уровне.

21.1.5. Семейство тогавирусов (Togaviridae)

В семействе тогавирусов (лат. *toga* — плащ, накидка), так же как и в состав ряда других семейств (флавивирусы, буньявирусы, аренавирусы и т.д.), входят представители группы арбовирусов (*arthropod borne* — передающиеся членистоногими).

Для арбовирусов членистоногие являются не только переносчиками, но и хозяевами, в организме которых они размножаются.

Структура и химический состав. Семейство объединяет сложные вирусы, имеющие внешнюю липидную оболочку, нуклеокапсид с кубическим (икосаэдральным) типом симметрии. Поверхность вирусов покрыта гликопротеиновыми «шипами» содержащими гемагглютинин. Геном образует однонитевая молекула плюс-РНК, выполняющая функцию *и*РНК.

Антигены. Вирусы имеют два антигена. Один из них — группоспецифический — связан с нуклеокапсидом. Другой — видовой и типоспецифический антиген — входит в состав гликопротеинов внешней оболочки. Он является гемагглютинином.

Культивирование и репродукция. Большинство тогавирусов хорошо репродуцируются в куриных эмбрионах при заражении в желточный мешок, а также в культурах клеток разных организмов млекопитающих и птиц, вызывая отчетливое ЦПД и формирование бляшек под агаровым покрытием.

Цитопатический эффект в инфицированных культурах клеток проявляется через 1–7 дней. Тогавирусы, как и другие арбовирусы, обычно вызывают частичную деструкцию монослоя.

Вирусы проникают в цитоплазму клеток путем рецепторного эндоцитоза. Вирионная РНК служит матрицей для синтеза пяти белков, в том числе РНК-полимеразы. Вначале на полисомах синтезируется единый белок-предшественник, который затем нарезается на отдельные вирусные белки. Созревание и выход вирионов осуществляется путем почкования нуклеокапсидов через модифицированные участки цитоплазматической мембраны клетки. Цикл репродукции занимает 4–8 ч.

Патогенез. У людей арбовирусные инфекции в зависимости от вида возбудителя и восприимчивости организма протекают в форме менингоэнцефалитов и геморрагических лихорадок. Последние характеризуются повышенной проницаемостью сосудов, что сопровождается массивными кровоизлияниями в коже и слизистых оболочках, а также в паренхиме внутренних органов.

В составе семейства тогавирусов более 90 вирусов, объединенных в 4 рода. Для человека патогенны два из них: род Alphavirus (арбовирусы антигенной группы А) и род Rubivirus, представленный вирусом краснухи человека, который не относится к арбовирусам.

Экология и эпидемиология. Помимо насекомых, основными хозяевами этих вирусов являются позвоночные животные. Арбовирусы накапливаются в слюнных железах и выделяются со слюной насекомых, для клещей характерна трансовариальная передача инфекции. Большинство арбовирусов передаются человеку при укусах комаров и клещей, некоторые — при укусах москитов, слепней, мокрецов.

Арбовирусные инфекции относятся к природно-очаговым заболеваниям с широко распространенным носительством. В природном очаге человек включается в эпидемическую цепь, чаще всего являясь тупиковым звеном.

Тогавирусы довольно чувствительны к действию физических и химических факторов. Они быстро инактивируются при хранении, нагревании, УФ-облучении, действии дезинфектантов и детергентов.

21.1.5.1. Альфавирусы

Род альфавирусов (арбовирусы группы А) включает 21 антигенно обособленный вирус, среди которых есть патогенные для человека виды.

Патогенез. После укуса кровососущего насекомого вирус попадает в кровяное русло. Первичная репродукция возбудителя происходит вне нервной ткани, например в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов, лимфатических узлах. Далее вирусы вновь поступают в кровь, вызывая вирусемию. Во второй фазе патогенеза они заносятся в различные участки ЦНС, печень, селезенку, почки. Разрушение нервных клеток приводит к тяжелым формам энцефалитов. Альфавирусы могут вызывать также различные заболевания, сопровождающиеся лихорадкой, высыпаниями на кожных покровах, иногда с развитием артритов, кровотечений.

Чаще всего встречаются альфавирусные лихорадки (Чикунгунья, леса Семлики, Синдбис, в нашей стране — карельская). Некоторые из них (Чикунгунья, карельская лихорадка) протекают с геморрагическими высыпаниями. Тяжелое течение характерно для энцефалитов, вызываемых альфавирусами лошадиных энцефаломиелитов, которые распространены в Южной Америке и США (венесуэльский, восточной и западный энцефаломиелит лошадей).

Иммунитет. После перенесения альфавирусных заболеваний развивается напряженный гуморальный иммунитет. Комплементсвязывающие антитела исчезают из организма через несколько месяцев с начала инфекции. Вируснейтрализующие антитела и антигемагглютинины сохраняются в течение многих лет.

Лабораторная диагностика. Альфавирусы выделяют из крови и спинномозговой жидкости в ранние сроки заболевания путем заражения новорожденных мышей, куриных эмбрионов и культур клеток. Для идентификации выделенного вируса используют реакции нейтрализации, РТГА, РСК.

При серодиагностике ориентируются на прирост антител в парных сыворотках или на присутствие вирусспецифических IgM — показателя недавно перенесенной инфекции. Серодиагностика проводится в реакции нейтрализации, РСК, РТГА, а также с помощью ИФА и РИА.

Для ***профилактики*** некоторых альфавирусных инфекций предложены инактивированные вакцины.

21.1.5.2. Вирус краснухи

Вирус краснухи выделен в отдельный род Rubivirus. Он не относится к группе арбовирусов, поскольку членистоногие не являются его хозяевами или переносчиками.

Структура и химический состав соответствуют другим тогавирусам.

Антигены. Вирус краснухи имеет два антигена. Один из них, внутренний антиген — нуклеопротеин, связанный с капсидом, выявляется в РСК, второй антиген, связанный с суперкапсидом, — в реакции нейтрализации и РТГА.

Вирус представлен одним серотипом, обладающим гемагглютинирующей, гемолитической и слабовыраженной нейраминидазной активностью в отличие от других тогавирусов.

Культивирование и репродукция. Вирус краснухи репродуцируется в первичных культурах клеток человеческого эмбриона, а также в ряде перевиваемых линий клеток с выраженным ЦПД. Цикл репродукции в культурах клеток завершается за 12–15 ч. Репродукция вируса происходит в цитоплазме клеток, где выявляются эозинофильные включения. Дальнейшее созревание вирионов происходит при почковании через мембрану пузырьков аппарата Гольджи, а затем при выходе через наружную мембрану клетки.

Патогенез. После заражения вирус попадает в лимфатические клетки шейных, затылочных и заушных желез, в которых начинается его первичная репродукция. Железы увеличиваются в размерах и становятся болезненными при пальпации. Затем вирус проникает в лимфу и кровь, где он обнаруживается за 3–4 дня до появления клинических симптомов заболевания. Вирусемия быстро прекращается после появления сыпи.

Заболевание протекает с лихорадкой, сыпью, поражением верхних дыхательных путей, болями в суставах, мышцах.

Вирус краснухи обладает выраженным эмбриопатическим действием. При прохождении через плаценту он адсорбируется на клетках эмбриональной ткани, вызывая пороки развития и даже гибель плода. При инфицировании беременных в первые 3 мес. беременности риск развития уродств достигает 80%, а в дальнейшем снижается до 25–8%, нередко возникают выкидыши.

Иммунитет. После перенесенной инфекции формируется напряженный, преимущественно гуморальный, иммунитет. В сыворотке крови обнаруживаются вируснейтрализующие, комплементсвязывающие антитела, а также антигемагглютинины. У детей с врожденной краснухой вирус длительно персистирует в организме при подавле-

нии синтеза интерферона. При этом в сыворотке крови определяются вирусоспецифические иммуноглобулины.

Экология и эпидемиология. Краснухой чаще всего болеют дети в возрасте от 1 года до 7 лет, возможно заболевание и взрослых. Источником инфекции являются больные, а также лица с бессимптомными формами инфекции. Основные пути передачи — аэрозольный и контактный через инфицированные предметы. Вирус начинает выделяться через 7–8 дней после инфицирования с секретом слизистых оболочек верхних дыхательных путей, а также с мочой и фекалиями.

Вирус малоустойчив при хранении, воздействии физических (УФ-облучение) и химических факторов. Он быстро инактивируется в патологическом материале при воздействии хлорсодержащих дезинфектантов и формалина.

Лабораторная диагностика. Вирус выделяют из носоглоточных смывов, крови, мочи, кала, в культуре клеток. Серодиагностика заключается в обнаружении вирусоспецифических антител класса IgM в реакции нейтрализации, РСК, РТГА, а также с помощью иммуноферментных и радиоиммунных методов.

Профилактика. Применяют убитые и живые вакцины. Рекомендуется иммунизировать девочек 12–14 лет при отсутствии у них антител к вирусу краснухи. Введение иммуноглобулина беременным женщинам не предупреждает размножения вируса в организме.

21.1.6. Семейство флавивирусов (Flaviviridae)

Ранее флавивирусы были включены в семейство тогавирусов, поскольку они весьма сходны с ними. В семейство флавивирусов входит более 50 арбовирусов (антигенная группа В). Типичным представителем является вирус желтой лихорадки, отсюда название семейства (лат. *flavus* — желтый). К данному семейству отнесен вирус гепатита С (*см. 21.3*). Флавивирусы включают 4 подгруппы антигенно-родственных вирусов (клещевого энцефалита, японского энцефалита, денге и желтой лихорадки), которые вызывают у людей тяжелые заболевания, протекающие в форме менингоэнцефалита или лихорадки с геморрагическими высыпаниями или без таковых.

Структура и химический состав. Вирионы флавивирусов (рис. 21.8) несколько меньше альфавирусов (40–50 нм в диаметре). Кроме того, они отличаются от них строением генома и особенностями репродукции в клетке. Флавивирусы имеют однонитевую плюс-РНК.

Антигены. В составе нуклеокапсида содержится один белок с группоспецифическими антигенными свойствами. На внешней оболочке имеются шиповидные отростки, содержащие гликопротеин,

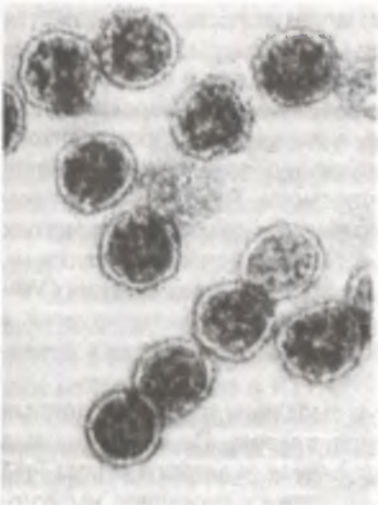


Рис. 21.8. Вирус клещевого энцефалита.
ЭМ. Ультратонкий срез.
Ув. 400 000

обладающий гемагглютинирующими свойствами. Наружные белки обладают типовой специфичностью.

Культивирование и репродукция. Вирусы культивируют в куриных эмбрионах и культурах, в которых образуются гигантские многоядерные клетки по типу симпластов. Флавивирусы имеют более продолжительный по сравнению с альфавирусами цикл репродукции — свыше 20 ч.

После адсорбции на фосфолипидных или гликолипидных рецепторах вирионы проникают путем рецепторного эндоцитоза во внутриклеточную вакуоль и освобождаются от своих оболочек. После синтеза вирусных белков и репликации РНК начинается формирование зрелых вирионов. Выход вирионов происходит путем почкования через модифицированные мембраны эндоплазматического ретикулума клетки, а не через цитоплазматическую мембрану, как это имеет место у альфавирусов. Вирионы накапливаются в везикулах, в составе которых транспортируются к наружной клеточной мембране и выходят из клетки путем выпячивания (экзоцитоза). Клетки при этом длительное время остаются жизнеспособными. Флавивирусы обладают слабой по сравнению с альфавирусами цитопатической активностью.

Патогенез и иммунитет. Первичная репродукция вируса происходит в макрофагах и гистиоцитах, далее — в регионарных лимфатических узлах. Затем вирусы попадают в кровь, заносятся во внутренние органы, нервные клетки головного мозга, где происходит их репродукция.

После заболевания формируется гуморальный, преимущественно типоспецифический, напряженный иммунитет. При этом развивается аллергия замедленного типа. В ряде случаев происходит образование иммунных комплексов.

Лабораторная диагностика проводится так же, как и при альфавирусных инфекциях.

21.1.6.1. Вирус желтой лихорадки

Вирусная природа заболевания установлена 1901 г. У. Ридом. Возбудитель представлен одним серотипом.

Патогенез. Вирус репродуцируется преимущественно в клетках печени, что приводит к нарушению их функции. Кроме печени, тяжело поражаются почки вследствие их жирового перерождения. Дегенеративные изменения наблюдаются в мышце сердца.

Эпидемиология и профилактика. По эпидемиологическим признакам желтая лихорадка подразделяется на два типа: джунглевая (лесная) и городская (классическая). Первая является эндемической, природно-очаговой инфекцией, которая передается комарами от обезьян. Городской тип передается домашними комарами от больных людей.

Желтая лихорадка встречается в странах Африки и Южной Америки, иногда приобретая характер эпидемий. Вспышки зарегистрированы и в других странах.

Для специфической профилактики используются живые вакцины. Лица, выезжающие в неблагополучные по желтой лихорадке районы, должны обязательно вакцинироваться.

21.1.6.2. Вирус лихорадки денге

Вирусная природа заболевания доказана в 1907 г. Возбудитель был выделен и детально изучен А. Сэбиным в 1944 г. Известно 4 антигенных типа возбудителя.

Патогенез и иммунитет. Заболевание характеризуется лихорадочным состоянием, сыпью, болезненностью суставов и мышц, вынужденно измененной («щеголеватой») походкой. Отсюда название (англ. *dandy* — франт). Нередко встречается геморрагическая форма лихорадки денге, которая в отличие от классической протекает более тяжело.

Вирус денге репродуцируется в различных органах — в печени, костном мозге, соединительной ткани, мышцах, клетках ЦНС. В крови вирус обнаруживается в первые дни заболевания.

Полагают, что геморрагическая форма развивается при повторном инфицировании организма человека через несколько месяцев или лет после перенесения первой атаки вируса. При этом образуются иммунные комплексы, активируется комплемент, повышается проницаемость сосудов.

В некоторых случаях геморрагическая форма заболевания возникает уже при первичном заражении.

Эпидемиология и профилактика. Заболевание распространено в странах с тропическим и субтропическим климатом. Резервуаром инфекции являются больные люди и обезьяны, у которых заболевание протекает бессимптомно. Переносчики — комары.

Для специфической профилактики заболевания предложены убитые вакцины 1-го и 2-го типов, однако их эффективность невысока.

21.1.6.3. Вирус японского энцефалита

Вирусная природа заболевания установлена в 1933 г. М. Хаяши в Японии и в 1940–1941 гг. А.К. Шубладзе, А.А. Смородинцевым и В.Д. Неустроевым на Дальнем Востоке.

Патогенез и иммунитет. Вирус репродуцируется в клетках ЦНС, приводя к их дегенерации и гибели. В основном поражаются ядра гипоталамической области, некоторые подкорковые образования, двигательные нейроны стволового и шейного отделов спинного мозга. Кроме клеток ЦНС, вирус репродуцируется в лимфоцитах и в клетках паренхиматозных органов. Японский энцефалит протекает в различных формах — от бессимптомной инфекции до тяжелейшего энцефалита и менингоэнцефалита. После перенесения заболевания формируется пожизненный гуморальный иммунитет.

Эпидемиология и профилактика. Заболевание распространено в странах Юго-Восточной Азии, в восточных районах нашей страны — на юге Приморского края. Резервуаром вируса являются дикие птицы, грызуны, крупный рогатый скот, лошади, свиньи. Переносчики — комары. Человек, как правило, является тупиковым звеном в эпидемической цепи. Однако при массовых эпидемиях может происходить заражение человека от человека через укус комара-переносчика. Максимум случаев заболевания приходится на июнь — август.

Для специфической профилактики японского энцефалита применяют инактивированную вакцину.

21.1.6.4. Вирус клещевого энцефалита

Вирус клещевого энцефалита был выделен от больных людей в 1937 г. Л.А. Зильбером, Е.Н. Левкович, М.П. Чумаковым и др. в Восточной Сибири (см. рис. 21.8).

Патогенез и иммунитет. Вирус поражает двигательные нейроны передних рогов шейного сегмента спинного мозга, мозжечка, мягкую оболочку головного мозга. До проникновения в мозг вирус репродуцируется в лимфоцитах, в клетках печени, селезенки, эндотелии сосудов (экстраневральное размножение).

Существует мнение, что при хронической форме энцефалита вирусный геном сохраняется в интегрированном состоянии в хромосомах нейронов головного мозга. После перенесения заболевания формируется напряженный гуморальный иммунитет.

Эпидемиология и профилактика. Заболевание распространено на большой территории от таежных районов Дальнего Востока до Центральной Европы в весенне-летний период. Выделено два антигенных варианта вируса. Один из них передается клещами Ixodes persulcatus. Он вызывает тяжелую форму заболевания на Дальнем Востоке. Другой, европейский вариант, передающийся клещами Ixodes

ricinus, вызывает инфекцию с более легким течением. Вирус клещевого энцефалита способен сохраняться у клещей на всех стадиях их развития, а также передаваться потомству трансовариально.

Сельскохозяйственные домашние животные также подвергаются нападению клещей. У них возникает бессимптомная инфекция с вирусемией. У коров и коз вирус проникает в молоко, с которым передается человеку.

Для специфической профилактики используют инактивированную формалином вакцину. Обязательной вакцинации подлежал лица, работающие в природных очагах. При укусе клеща профилактически вводят специфический иммуноглобулин.

21.1.6.5. Вирус омской геморрагической лихорадки (ОГЛ)

Вирус ОГЛ относится к антигенному комплексу вирусов клещевого энцефалита. Открыт в 1947 г. М.П. Чумаковым.

Патогенез и иммунитет. Заболевание протекает с высокой лихорадкой, выраженной интоксикацией и геморрагическим синдромом.

В отличие от клещевого энцефалита вирус ОГЛ не проявляет выраженных нейротропных свойств, несмотря на антигенную близость между ними. Вирус ОГЛ поражает эндотелий кровеносных капилляров кожи и внутренних органов. Прогноз обычно благоприятный, смертность не превышает 0,5–3%.

После перенесения заболевания формируется пожизненный гуморальный иммунитет, связанный с синтезом вируснейтрализующих антител.

Эпидемиология и профилактика. Естественным резервуаром вируса в природе являются различные грызуны и птицы, у которых заболевание обычно протекает бессимптомно.

Переносчиком и основным хозяином вируса являются клещи.

Заражение человека происходит при укусе инфицированных клещей, при прямом контакте с больными ондатрами (например, при снятии шкурки), а также алиментарным путем через инфицированную воду.

Для специфической ***профилактики*** используют инактивированную вакцину, приготовленную из мозга зараженных белых мышей. Для экстренной профилактики вводят специфический иммуноглобулин.

21.1.7. Семейство буньявирусов (Bunyaviridae)

Семейство Bunyaviridae (местность Буньямвера в Уганде) насчитывает более 260 арбовирусов, объединенных по характеру строения вириона и особенностям репродукции. В составе семейства 4 рода.

Структура и химический состав. Вирионы имеют диаметр 90–100 нм, снаружи окружены липидсодержащей внешней оболочкой, от которой отходят шиповидные отростки, состоящие из вирусных гликопротеинов. Капсид построен по спиральному типу симметрии. Геном состоит из трех фрагментов, циркулярно замкнутых однонитевых минус-РНК, не обладающих инфекционными свойствами. Фрагменты РНК соединены с внутренним белком и с РНК-полимеразой (транскриптазой).

Антигены. Нуклеопротеин является группоспецифическим антигеном, два наружных гликопротеина — типоспецифическими антигенами, с которыми связаны гемагглютинирующие свойства.

Культивирование и репродукция. Буньявирусы культивируют в культурах клеток различного происхождения.

Проникновение буньявирусов в клетки хозяина происходит так же, как и тогавирусов, путем рецепторного эндоцитоза.

Буньявирусы репродуцируются в цитоплазме клетки. С каждого фрагмента РНК транскрибируются *и*РНК при участии вирусспецифической РНК-транскриптазы. Образование вирусных белков происходит на фоне интенсивного макромолекулярного синтеза клетки-хозяина. Вирусные частицы выходят путем почкования через стенки везикул в области аппарата Гольджи. Выход частиц из пораженных клеток происходит путем экзоцитоза и клеточного лизиса.

Патогенез, эпидемиология, профилактика. У человека вызывают различные по клинической картине и тяжести заболевания — от бессимптомных инфекций до тяжелых геморрагических лихорадок. Основными возбудителями в Европе и на территории СССР являются буньявирусы Крымской геморрагической лихорадки, москитной лихорадки, геморрагической лихорадки с почечным синдромом и др. Их хозяевами являются грызуны, птицы, домашние животные. Буньявирусы быстро разрушаются при нагревании и действии детергентов, УФ-облучения и солнечного света. Инактивация в воздухе происходит быстрее при повышенной влажности.

Для специфической профилактики некоторых буньявирусных инфекций предложены инактивированные вакцины.

Лабораторная диагностика буньявирусных инфекций проводится путем выделения вируса из крови больных в первые дни заболевания. Для выделения возбудителя заражают новорожденных мышей и культуры клеток. Серодиагностику проводят в реакции нейтрализации, РТГА, РСК, иммунопреципитации, РНГА с парными сыворотками.

21.1.7.1. Вирус крымской геморрагической лихорадки (КГЛ)

Как самостоятельное заболевание было впервые описано в 1944 г. во время эпидемии в Крыму. В 1945 г. М.П. Чумаков выделил из крови больных, а также из клещей вирус-возбудитель.

Патогенез и иммунитет. При КГЛ наблюдается вирусемия и множественные кровоизлияния (геморрагии) в полость желудка, кишечника, очаговые кровоизлияния в легких и геморрагические высыпания.

Вируснейтрализующие антитела появляются после перенесения заболевания и сохраняются во многих случаях в течение многих лет.

Эпидемиология и профилактика. Природные очаги инфекции зарегистрированы в Крыму, степной зоне Украины и других местах. Близким по биологическим и антигенным свойствам является вирус Конго, вызывающий заболевания в Центральной Африке. Поэтому болезнь называют крымско-конголезской геморрагической лихорадкой.

Основным носителем вируса являются пастбищные клещи. Из диких животных циркуляцию вируса поддерживают зайцы и ежи, из домашних — коровы и овцы, у которых заболевание протекает бессимптомно.

Человек обычно инфицируется при укусе клещей. Возможен контактный путь заражения, когда вирус попадает через микроповреждения кожных покровов и слизистых оболочек.

Для специфической профилактики применяется инактивированная формалином вакцина из мозга инфицированных новорожденных мышей. Для экстренной профилактики и лечения применяют специфический иммуноглобулин.

21.1.7.2. Вирусы москитных лихорадок

Возбудителями москитных лихорадок: сицилийской, неаполитанской, долины Рифт и других являются буньявирусы. Заболевание характеризуется относительно благоприятным течением.

Иммунитет типоспецифический, нестойкий. Около 20% лиц болеют по 2–3 раза.

Вспышки москитной лихорадки регистрировались в Крыму, Закавказье и др. В настоящее время заболевание не встречается благодаря систематическому истреблению москитов.

Для профилактики москитной лихорадки предложена живая вакцина.

21.1.7.3. Вирус геморрагической лихорадки с почечным синдромом

Данный вирус относится к роду Hantavirus, включающему несколько видов: Хантаан, Сеул и др.

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом — тяжелое вирусное заболевание человека, характеризующееся природной очаговостью.

В патогенезе заболевания важная роль принадлежит повреждению Т-супрессоров и поликлональной активации В-лимфоцитов. Характерно образование инфекционных иммунных комплексов, которые откладываются в клубочках и извитых канальцах почек, повреждая их функцию. Репродукция вируса происходит в клетках легких, почек, селезенки и эндотелии сосудов.

Иммунитет — гуморальный, вируснейтрализующие протективные антитела сохраняются после перенесения заболевания пожизненно.

Многочисленные очаги заболевания зарегистрированы в следующих регионах: Дальний Восток, Предуралье, Среднее Поволжье, Белоруссия, Западная Украина. Антигенные разновидности вируса встречаются в разных странах.

Основной резервуар вируса в природе — многочисленные виды мышевидных грызунов, в особенности рыжая полевка, а также синантропные крысы. Участие кровососущих насекомых в передаче инфекции не доказано.

Человек заражается при контакте с экскрементами инфицированных грызунов.

21.1.8. Семейство аренавирусов (Arenaviridae)

Семейство аренавирусов (лат. *arena* — песок) включает 12 видов, представители которых характеризуются наличием 2–14 электронно-плотных мелких гранул, напоминающих песок. По-видимому, они являются клеточными рибосомами. Функция рибосом, инкорпорированных в вирионы, остается невыясненной. К семейству аренавирусов относятся вирусы лимфоцитарного хориоменингита (ЛХМ), Лассо и др. Они имеют общий комплементсвязывающий антиген, различаются в реакции нейтрализации. По ряду свойств напоминают арбовирусы, хотя передача их кровососущими насекомыми не доказана.

21.1.8.1. Вирус лимфоцитарного хориоменингита (ЛХМ)

Вирус ЛХМ выделен в 1934 г. К. Армстронгом и Р. Лили от больных серозным менингитом.

Структура и химический состав. Вирионы имеют сферическую или овальную форму (диаметр 100–130 нм). Они окружены внешней липидсодержащей оболочкой с шиповидными отростками, содержащими гликопротеин. Геном ЛХМ вируса представлен однонитевой РНК, состоящей из двух фрагментов. В составе вириона обнаружено до 5 наружных и внутренних белков, один из которых является РНК-полимеразой (транскриптазой).

Антигены. Внутренний белок является группоспецифическим, а наружные — типоспецифическими антигенами. Гемагглютинины

представляют собой гликопротеины, содержащиеся в шиповидных отростках.

Культивирование и репродукция. Вирусы ЛХМ репродуцируются в цитоплазме клеток, где образуют включения. Выход вирионов происходит путем почкования через модифицированные участки клеточных мембран.

Вирус культивируют в культурах эмбриональных тканей мышей, кур, в клетках амниона человека.

Патогенез и иммунитет. Входными воротами инфекции являются дыхательный и пищеварительный тракты. Первичная репродукция вируса в организме человека происходит в регионарных лимфатических узлах. Она сменяется вирусемией, при которой повреждаются стенки кровеносных капилляров.

Гуморальный иммунитет связан с синтезом вируснейтрализующих и комплементсвязывающих антител, которые появляются не ранее 2–3 недель от начала заболевания.

Эпидемиология и профилактика. Лимфоцитарный хориоменингит относится к типичным зооантропонозам. Основным хозяином вируса является домовая мышь. Инфекция передается аэрогенным и алиментарным путями. Вирус ЛХМ легко инактивируется жирорастворителями и детергентами, а также в среде с низким и высоким значениями pH, при нагревании до 50°C и более.

Методы специфической профилактики не разработаны.

Лабораторная диагностика проводится путем выделения вируса из исследуемого материала (кровь, моча, смывы из полости рта) в культуре клеток и при заражении новорожденных мышей или хомяков.

Для серодиагностики применяют РСК, реакцию нейтрализации и непрямой иммунофлюоресценции.

21.1.8.2. Вирус Ласса

Вирус был выделен в 1969 г. от больных из населенного пункта Ласса (Нигерия). Он является возбудителем геморрагической лихорадки, протекающей с нарушениями со стороны ЦНС. Заболевание характеризуется разной степенью тяжести вплоть до молниеносной формы. При этом летальность достигает 70%.

Болезнь эндемична для Центральной и Западной Африки. Основным резервуаром вируса в природе являются многососковые крысы, которые выделяют возбудителя с мочой и слюной. Человек заражается алиментарным, контактным и воздушно-капельным путями как от животных, так и от больных людей. Наибольшая опасность заражения существует для медицинского персонала и лиц, непосредственно контактирующих с больным. Возможно проникновение вируса Ласса через кожу.

21.1.9. Семейство филовирусов (Filoviridae)

Семейство Filoviridae (лат. *filum* — нить) объединяет два вируса — возбудителей тяжелых геморрагических лихорадок человека. Один из них — вирус Марбург — выделен в 1967 г. из крови больных и секционного материала в г. Марбурге, другой — вирус Эбола — выделен в 1976 г. из крови больной в Южном Судане. Вирусы имеют общий антиген.

Структура и химический состав. РНК-содержащие вирионы имеют форму длинных извитых нитей, иногда с ответвлениями. Их длина может достигать 1200–4000 нм, ширина — 70–100 нм. Нуклеокапсид спирального типа симметрии, снаружи окружен липидсодержащей оболочкой.

Патогенез. Вирусы Марбург и Эбола вызывают у человека лихорадку, сопровождающуюся тяжелой интоксикацией, сыпью, подкожными и внутренними кровоизлияниями, массивными кровотечениями с поверхности слизистых оболочек дыхательного и пищеварительного трактов. При этом возникают участки некрозов в печени, селезенке, лимфатических узлах, поджелудочной железе, нарушаются процессы свертывания крови, резко уменьшается количество тромбоцитов. Летальность достигает 50%.

Эпидемиология. Заболевания эндемичны для некоторых африканских стран. Резервуаром вируса являются обезьяны. Возбудители передаются от обезьян, а также от человека к человеку аэрогенным путем через слизистые оболочки и поврежденную кожу при контакте с кровью и выделениями больных.

Специфическая профилактика не разработана.

Лабораторная диагностика проводится путем выявления вируса в крови больных при электронно-микроскопическом исследовании, а также путем заражения морских свинок или культуры клеток vero. ЦПД не развивается. Вирусный антиген можно обнаружить с помощью реакции иммунофлюоресценции.

21.1.10. Семейство рабдовирусов (Rhabdoviridae)

В семейство включены вирусы, патогенные для широкого круга хозяев: позвоночных и беспозвоночных животных, простейших, растений. Для человека патогенными являются вирус везикулярного стоматита и вирус бешенства.

Структура и химический состав. Вирионы имеют пулевидную или палочковидную форму размером 170 × 70 нм (рис. 21.9). Отсюда название семейства (греч. *rhabdos* — прут). Снаружи имеется липидсодержащая оболочка с отходящими от нее отростками, в центре —

нуклеокапсид спирального типа симметрии, отделенный от внешней оболочки матриксным белком.

Вирионы содержат несколько белков: капсидные и матриксный белки, РНК-полимеразу и другие ферменты, а также гликопротеин, входящий в состав шиповидных отростков внешней оболочки.

В состав генома входит однонитевая нефрагментированная минус-РНК.

Антигены. Нуклеопротеин является группоспецифическим антигеном, который выявляется в реакциях иммунофлюоресценции, преципитации в геле и РСК. Гликопротеин внешней оболочки представляет собой типоспецифический антиген, ответственный за инфекционную и, вероятно, гемагглютинирующую активность вирионов. Он может быть выявлен в реакции нейтрализации и РТГА.

Рис. 21.9. Вирус везикулярного стоматита
ЭМ. Ультратонкий срез. Ув. 400 000

Репродукция. Рабдовирусы репродуцируются в цитоплазме клеток. Синтезируются 4 вида *и*РНК. Трансляция происходит после подавления макромолекулярного синтеза компонентов клетки-хозяина на полирибосомах. Выход вирионов из клеток происходит путем почкования через модифицированные участки плазматической мембраны. В цитоплазме клеток образуются ацидофильные включения.

21.1.10.1. Вирус везикулярного стоматита

Вирус относится к роду Vesiculovirus (рис. 21.9). Известны два антигенных варианта вируса, поражающие слизистую оболочку рта, десен и зева человека с характерными везикулярными высыпаниями. Вирус является сильным индуктором интерферона, к которому он проявляет высокую чувствительность.

Вирус относится к группе арбовирусов. Он передается комарами, в организме которых размножается.

Специфическая профилактика не разработана.

Лабораторная диагностика проводится путем выделения вируса из жидкости везикул и крови в куриных эмбрионах и культуре клеток. В культуре клеток он вызывает ЦПД и образование бляшек. Для идентификации вируса и серодиагностики применяется РСК, реакция иммунофлюоресценции, иммуноферментный и радиоиммунный методы.

21.1.10.2. Вирус бешенства

Относится к роду Lyssavirus (греч. *lyssa* — бешенство). Вызывает у животных и человека смертельную инфекцию, характеризующуюся необратимым поражением нейронов ЦНС. В 1885 г. Л. Пастер экспериментально обосновал способ аттенуации еще не известного возбудителя и получил антирабическую вакцину. В 1892 г. В. Бабеш и в 1903 г. А. Негри описали специфические включения в нейронах головного мозга погибших от бешенства животных (тельца Негри). Известно несколько родственных биоваров возбудителя: вирус «дикования» оленей, песцов и лис в Арктике, вирус летучих мышей в Америке, вирус «безумной собаки» в Западной Африке и др.

Культивирование и репродукция. Вирус бешенства культивируют в культуре клеток почек новорожденных хомячков, в диплоидных клетках человека. Цитопатогенная активность непостоянная. Вирус может быть адаптирован к куриным и утиным эмбрионам при заражении в желточный мешок.

Патогенез и иммунитет. Во входных воротах инфекции вирус остается несколько дней. Первичная репродукция, по-видимому, происходит в клетках мышечной ткани в месте укуса. Затем вирусные частицы достигают окончаний чувствительных периферических нервов, продвигаются по их осевым цилиндрам и периневральным пространствам (до 3 мм в час), поражая нейроны спинного и головного мозга. Различной скоростью продвижения вируса по нервным стволам можно объяснить продолжительность инкубационного периода инфекции. Он является минимальным (до 10–14 дней) при проникновении возбудителя через кожные покровы головы и лица и наиболее продолжительным (1,5 мес. и более) при укусах в конечности (кисти рук, стопы ног). В нейронах происходит интенсивная репродукция вируса, в результате чего появляются цитоплазматические тельца Бабеша–Негри (рис. 21.10), содержащие вирусные нуклеокапсиды. Особенно интенсивно поражаются нейроны аммонова рога, продолговатого мозга, клетки Пуркинье мозжечка.

В организме синтезируются вируснейтрализующие антитела, которые, возможно, обладают протективным действием до проникновения возбудителя в клетки ЦНС.

Эпидемиология. Резервуаром вируса в природе являются различные теплокровные животные. У летучих мышей может формироваться хроническая бессимптомная инфекция. Наиболее чувствительны к возбудителю бешенства собаки, лисы, волки, шакалы, а также кошки, рыси. Чаще всего человек заражается от больных бешенство лис и кошек, реже — от собак и других животных, у которых вирус содержится в слюнных железах и со слюной выделяется во внешнюю среду. Вирус передается при укусах и попадании слюны на поврежденные кожные покровы и слизистую оболочку.

Человек является тупиковым звеном в циркуляции вируса, передача возбудителя от человека к человеку наблюдается крайне редко.

Вирус бешенства чувствителен к нагреванию. При 56°С инактивация наступает за 60 мин., при 80–100°С — за 1 мин. Он быстро инактивируется в растворах щелочей, йода, детергентов и при УФ-облучении. Медленное высушивание приводит к инактивации возбудителя в материале за несколько дней, а в условиях лиофилизации вирус сохраняется годами.

Рис. 21.10. Тельца Бабеша–Негри: 1 — тельца Бабеша– Негри; 2 — эритроциты; 3 — нервные клетки

Лабораторная диагностика бешенства обычно проводится после смерти животного или человека при обнаружении телец Бабеша–Негри в нейронах головного и спинного мозга, в клетках слюнных желез, выявлении вирусного антигена в пораженных тканях, с помощью реакции иммунофлюоресценции. В слюне больных людей и в мозге погибших можно определить наличие вируса путем внутримозгового заражения белых мышей, у которых развивается паралич конечностей и вскоре наступает гибель.

Профилактика. В настоящее время используют живые и инактивированные вакцины.

Задолго до выделения вируса Л. Пастер разработал метод аттенуации путем многократных пассажей «уличного» вируса через мозг кроликов. По мере пассирования инкубационный период инфекции сократился до 5 дней и далее оставался стабильным. Поэтому Пастер называл полученный им вирус фиксированным (virus fix). Он размножался только в мозгу кроликов и не выявлялся в слюне инфицированных животных, а также утратил свою патогенность для людей и собак. После высушивания суспензии мозга Пастер использовал его в качестве вакцины для профилактики бешенства у людей.

В настоящее время живую антирабическую вакцину готовят из вируса, выращенного на диплоидных клетках человека. Антирабическую вакцину можно рассматривать как лечебно-профилактический препарат, поскольку специфические защитные реакции развиваются в течение инкубационного периода.

При множественных укусах опасной локализации (область головы и шеи), когда инкубационный период может оказаться коротким, параллельно с вакциной вводят специфический иммуноглобулин. Его получают из сыворотки крови гипериммунизированных лошадей.

21.1.11. Семейство коронавирусов (Coronaviridae)

Семейство коронавирусов (лат. *corona* — корона) включает 11 видов, поражающих человека, кошек, собак, птиц, крупный рогатый скот, свиней.

Вирусы выделены в 1965–1067 гг. от людей, страдающих острыми респираторными заболеваниями.

Структура и химический состав. Вирионы сферической формы, диаметром 80–169 нм. Нуклеокапсид окружен белковой мембраной и липидсодержащей внешней оболочкой, от которой отходят многочисленные шиповидные отростки, в совокупности напоминающие солнечную корону. При удалении отростков вирионы утрачивают инфекционные свойства.

Геном представлен однонитевой плюс-РНК. В состав вирионов входят несколько белков. Одни из них связан с РНК и входит в состав нуклеокапсида. Другой — гликопротеид шиповидных отростков — является гемагглютинином. Кроме того, он обеспечивает адсорбцию и проникновение в клетки хозяина.

Антигены. Вирионы содержат несколько антигенов. Штаммы коронавирусов человека по антигенным свойствам разделяются на 4 группы.

Культивирование. Коронавирусы выделяют в культурах тканей эмбриона человека, а также в первичных диплоидных и некоторых гетероплоидных культурах клеток.

Патогенез и иммунитет. Коронавирусы вызывают у людей острые респираторные и кишечные заболевания. Первичная репродукция вируса происходит в клетках слизистых оболочек носоглотки и дыхательных путей, возникает профузный насморк, у детей чаще — бронхиты и пневмонии. При репродукции вируса в эпителиальных клетках желудочно-кишечного тракта возникают гастроэнтериты.

После перенесения инфекции формируется гуморальный иммунитет. В сыворотке крови выявляются вируснейтрализующие, комплементсвязывающие и преципитирующие антитела, а также антигемагглютинины.

Эпидемиология и профилактика. О широкой циркуляции коронавирусов среди населения свидетельствует наличие антител у 82% обследуемых людей. Они передаются от человека к человеку в основном воздушно-капельным путем, хотя возможны и другие способы передачи. Коронавирусные инфекции встречаются в течение всего года, но чаще в зимне-весенний период.

Коронавирусы обладают кебольшой устойчивостью к воздействию химически и физических факторов. Они разрушаются эфиром, этанолом и другими органическими растворителями, инактивируются при

кислых и щелочных значениях pH, при нагревании до 56°С утрачивают инфекционность через 10–15 мин.

Специфическая профилактика не разработана.

Лабораторная диагностика. Выделение вируса затруднено в связи со сложностью адаптирования возбудителей к культурам тканей. В основном клинический диагноз подтверждается серологическими исследованиями, которые проводятся с целью выявления специфических вируснейтрализующих антител.

21.1.12. Семейство парамиксовирусов (Paramyxoviridae)

Семейство парамиксовирусов (лат. *para* — около, *myxa* — слизь) включает три патогенных для человека рода: Paramyxavirus, Morbillivirus, Pneumovirus. К первому относятся вирусы парагриппа и эпидемического паротита, ко второму — вирус кори и подострого склерозирующего панэнцефалита. Инфекции, вызванные парамиксовирусами, чаще всего наблюдаются у детей разного возраста. К третьему — респираторно-синтициальный вирус. Известны также парамиксовирусы, патогенные для животных (птиц, собак и др.).

Структура и химический состав. Вирионы имеют сферическую форму диаметром 150–500 нм. В центре вириона расположен нуклеокапсид со спиральным типом симметрии, окруженный внешней оболочкой с шиповидными отростками. Вирусная РНК представлена несегментированной односпиральной минус-нитью. В составе нуклеокапсида содержится несколько вирусоспецифических ферментов, в том числе РНК-полимераза (транскриптаза). Нуклеокапсид покрыт матриксным белком, выстилающим изнутри внешнюю оболочку. Последняя состоит из двух липидных слоев клеточного происхождения и трех вирусоспецифических белков. Два из них — гликопротеины NH, входящие в состав шиповидных отростков, обладают гемагглютинирующей и нейраминидазной активностью. Третий F-белок участвует в слиянии клеточных мембран с вирусной оболочкой, обусловливая тем самым проникновение вируса в клетку хозяина. Данный белок отвечает за гемолитические и цитотоксические свойства вируса.

Антигены. Парамиксовирусы содержат два видоспецифических антигена: внутренний S-антиген (нуклеопротеин) и наружный Y-антиген (гликопротеины шиповидных отростков). Общий антиген для всего семейства отсутствует. У ряда парамиксовирусов Y-антиген содержит два самостоятельных антигенных компонента, один из которых является гемагглютинином (Н-антигеном), другой — нейраминидазой (N-антигеном).

Репродукция. Парамиксовирусы с помощью гликопротеиновых рецепторов адсорбируются на чувствительных клетках хозяина. Про-

никновение вириона в клетки происходит путем рецепторного эндоцитоза или при слиянии вирусной оболочки с цитоплазматической мембраной. Репликация вирусной РНК происходит в цитоплазме инфицированных клеток. При формировании вирионов происходит модификация отдельных участков цитоплазматической мембраны клетки-хозяина за счет встраивания в нее с наружной стороны вирусных гликопротеинов, а с внутренней — мембранного белка. К модифицированным участкам клеточной мембраны по актиновым нитям цитоскелета транспортируются вирусные нуклеокапсиды. Выход вирусных частиц осуществляется путем почкования. В цитоплазме инфицированных клеток образуются ацидофильные включения.

Эпидемиология. Парамиксовирусы являются высокочувствительными к действию физических и химических факторов. Они разрушаются детергентами дезинфектантами, а также при нагревании до температуры 50°С. Источником инфекции являются больные и вирусоносители. Вирусы передаются аэрозольным и в некоторых случаях контактным путем. Наиболее тяжело заболевание протекает у детей раннего возраста. При паротите, кори больной является опасным для окружающих, уже начиная с инкубационного периода.

Лабораторная диагностика. Вирус выделяют из соответствующего материала (слюна, моча, кровь, смывы из зева и др.) в культуре клеток разного происхождения. Идентификацию вирусов производят по характеру ЦПД и в серологических реакциях: РСК. нейтрализации, РТГА. Кроме того, для обнаружения вирусного антигена в исследуемом материале при парагриппе, кори, респираторно-синцитиальной инфекции используют иммунофлюоресцентный метод.

Серодиагностика проводится в РСК, реакции нейтрализации, РТГА — с парными сыворотками больных людей.

21.1.12.1. Вирусы парагриппа человека (ВПГЧ)

Первые штаммы были выделены в 1956 г. в США Р. Чаноком от детей с острыми респираторными заболеваниями. В настоящее время известно 5 серотипов вируса парагриппа (ВПГЧ-1 — ВПГЧ-5) (рис. 21.11).

Парагриппозные вирусы обладают более выраженной гемадсорбирующей активностью, которая проявляется в инфицированных культурах клеток при добавлении эритроцитов морской свинки. Они характеризуются также наличием гемагглютинирующих свойств, которые неодинаково выражены у разных серотипов в отношении эритроцитов различных животных и человека. Все серотипы обладают нейраминидазной активностью, а также умеренно выраженными гемолитичекими и симпластобразующими свойствами. Они репродуцируются в первичных и перевиваемых культурах клеток человека и обезьян. Выраженность ЦПД варьирует в зависимости от серотипа и

Рис. 21.11. Внеклеточный вирион вируса парагриппа

штамма. Вирусы ВПГЧ-1 и ВПГЧ-4 типов наименее цитопатогенны, их определяют в зараженных культурах по реакции гемадсорбции. Парагриппозные вирусы с трудом адаптируются к размножению в куриных эмбрионах.

Патогенез. Парагриппозные инфекции у людей протекают по типу острых респираторных заболеваний. Вирусы парагриппа репродуцируются в эпителиальных клетках слизистой оболочки носоглотки. Затем они проникают в кровь, вызывая вирусемию.

Иммунитет. После перенесения инфекции формируется типоспецифический гуморальный иммунитет, который сохраняется в течение нескольких лет. В сыворотке крови обнаруживаются комплементсвязывающие, вируснейтрализующие, антигемагглютинирующие антитела. Важное значение имеют секреторные антитела SIgA.

Вакцинопрофилактика не применяется.

Парагрипп может служить причиной внутрибольничных инфекций, особенно среди ослабленных детей. Среди острых респираторных заболеваний парагрипп встречается примерно в 10% случаев.

21.1.12.2. Вирус паротита

Вирусная природа паротита (свинки) впервые была установлена К. Джонсоном и Э. Гудпасчером в 1934 г. Вирус паротита обладает типичными для парамиксовирусов свойствами, содержит V- и S-антигены. Известен только 1 серотип вируса.

Вирус паротита репродуцируется в культурах клеток с образованием синцития. При пассировании на куриных эмбрионах наблюдается снижение инфекционных свойств вируса паротита для человека. Это используется для получения аттенуированных штаммов при приготовлении живой вакцины.

Патогенез и иммунитет. Входными воротами инфекции являются верхние дыхательные пути. Первичная репродукция вируса происходит в эпителиальных клетках носоглотки. Затем он поступает в кровь, разносится по организму, фиксируясь в яичках, яичниках, в поджелудочной и щитовидной железах и в мозге. Однако не исключена возможность первичной репродукции вируса в клетках эпителия околоушных желез, в которые он попадает по стенонову протоку,

после чего с кровью заносится во внутренние органы. При этом у мальчиков могут возникнуть орхиты, а у детей обоего пола — менингиты и другие осложнения.

После заболевания и в период реконвалесценции обнаруживаются комплементсвязывающие и вируснейтрализующие антитела, причем антитела против V-антигена сохраняются дольше, чем против S-антигена. Последние исчезают сразу после выздоровления. Постинфекционный иммунитет сохраняется всю жизнь. Дети первых месяцев жизни не восприимчивы к паротиту, поскольку у них имеются материнские антитела, которые сохраняются в течение полугода. Через 3–4 недели после начала заболевания появляется реакция ГЗТ.

Профилактика. В нашей стране А.А. Смородинцевым с сотр. получены живые вакцины, которые применяются в виде моновакцины или ассоциированной с вакциной против кори. Для лечения и поздней профилактики используется иммуноглобулин, однако он не эффективен при орхитах.

21.1.12.3. Вирус кори

Вирусная природа кори была доказана в 1911 г. Дж. Андерсоном и Дж. Гольдбергом. Вирус кори обладает многими признаками, которые присущи другим представителям семейства парамиксовирусов. Однако он агглютинирует только эритроциты обезьян (макака резус), поскольку последние имеют специфические рецепторы, отсутствующие у эритроцитов других видов животных. Кроме того, вирус кори не имеет нейраминидазы и плохо адаптируется к куриным эмбрионам.

Вирус кори содержит стабильные антигены. Серотипы не обнаружены. Для культивирования вируса используются первичные культуры клеток почек обезьян и эмбриона человека, перевиваемые линии клеток Hela, KB, Vero и др. ЦПД проявляется в образовании симпластов.

Патогенез и иммунитет. Первичная репродукция вируса происходит в эпителиальных клетках слизистой оболочки носоглотки и верхних отделах дыхательных путей, откуда он проникает в кровь, поражая эндотелий кровеносных капилляров. Вследствие некротизации этих клеток появляется сыпь. Вместе с тем вирус подавляет функциональную активность Т-лимфоцитов, что приводит к развитию вторичного иммунодефицита. В редких случаях вирус проникает в ЦНС, вызывая энцефаломиелит. В случае персистирования вируса в лимфоидных тканях и нейронах ЦНС через несколько лет после перенесения заболевания может развиться подострый склерозированный панэнцефалит — медленная инфекция с летальным исходом.

После перенесения кори формируется гуморальный, обычно пожизненный, иммунитет. В сыворотке крови присутствуют компле-

ментсвязывающие антитела и антигемагглютинины. Противокоревые антитела класса IgG проникают через плаценту в организм плода и защищают новорожденных на протяжении первых 6 месяцев жизни.

Профилактика. Для активной иммунизации детей применяется живая вакцина. Для пассивной иммунизации в очагах заболевания детям вводят противокоревой иммуноглобулин, полученный из донорской и плацентарной крови. Продолжительность пассивного иммунитета до 1 мес.

21.1.12.4. Вирус подострого склерозирующего панэнцефалита (ПСПЭ)

Вирус ПСПЭ представляет собой персистирующий вирус кори, который отличается от возбудителя кори измененной структурой М (матричного) и F-белков. Мутация М-белка приводит к нарушению образования и выхода вирусного потомства из клеток хозяина, поскольку в биоптатах вирус не обнаруживается. Нарушение структуры F-белка затрудняет элиминацию вируса цитотоксическими клетками.

Патогенез ПСПЭ связан с персистированием вируса кори в клетках нейроглии после перенесения кори в детском возрасте. При этом происходит нарушение иммунного ответа, в результате чего у больных появляются высокие титры антител к NP-белку вируса в сыворотке крови и спинномозговой жидкости.

Лабораторная диагностика проводится на основании выявления высоких титров антител и обнаружения IgG.

Специфическая профилактика и ***терапия*** не разработаны.

21.1.12.5. Респираторно-синцитиальный (PC) вирус

PC-вирус был выделен в 1957 г. Р. Ченоком от больных детей с симптомами острого респираторного заболевания (ОРЗ).

PC-вирус отличается от других парамиксовирусов полиморфизмом вирионов, более сложным геномом, в котором закодировано 10 белков. Два из них являются поверхностными гликопротеинами (NH и F). Вместе с тем PC-вирус характеризуется наличием вирусоспецифического комплементсвязывающего антигена и полным отсутствием гемагглютинирующей, гемадсорбирующей, а также нейраминидазной активности. Он репродуцируется в клетках первичных культур почек обезьян и в перевиваемых линиях клеток, вызывая ЦПД, проявляющееся в образовании симпластов и синцитиев. В куриных эмбрионах вирус не размножается.

Антигены. Установлены антигенные различия штаммов, выделенных от разных людей, которые, по-видимому, связаны с изменениями гликопротеинов внешней оболочки вириона.

Патогенез и иммунитет. Заражение происходит воздушно-капельным путем. Вирус репродуцируется в эпителиальных клетках слизистой оболочки верхних и нижних отделов дыхательных путей. У переболевших людей в сыворотке крови выявляются вирусоспецифические иммуноглобулины различных классов. Важное значение при этом приобретают SIgA. Иммунитет сохраняется не более 1 года. Повторные заболевания встречаются часто, особенно у детей, даже при наличии антител в сыворотке крови. Это, возможно, связано с существованием нескольких серотипов вируса. РС-вирус обладает иммуносупрессивными свойствами, вызывая подавление клеточных и гуморальных реакций иммунитета. Этим объясняется высокая частота вторичных бактериальных инфекций. При РС-инфекции развиваются иммунопатологические реакции, связанные с формированием инфекционных иммунных комплексов. РС-инфекция нередко является главной причиной тяжелых внутрибольничных пневмоний в палатах для новорожденных и детей младшего возраста. С возрастом тяжесть заболеваний, вызываемых РС-вирусом, снижается.

Вакцинопрофилактика не применяется.

21.1.13. Семейство ортомиксовирусов (Orthomyxoviridae)

21.1.13.1. Вирусы гриппа

К семейству ортомиксовирусов (греч. *orthos* — правильный, myxa — слизь) относятся вирусы гриппа типов А, В, С, которые так же, как и парамиксовирусы, обладают сродством к муцину. Вирусы гриппа А поражают человека и некоторые виды животных (лошади, свиньи и др.) и птиц. Вирусы гриппа типов В и С патогенны только для людей. Первый вирус гриппа человека был выделен от человека в 1933 г. В. Смитом, К. Эндрюсом и П. Лэйдоу (штамм WS) путем заражения белых хорьков. Позже этот вирус был отнесен к типу А. В 1940 г. Т. Френсис и Т. Меджилл открыли вирус гриппа типа В, а в 1949 г. Р. Тэйлор — вирус гриппа типа С.

При классификации вирусов гриппа всегда испытывались определенные трудности, связанные с их антигенной изменчивостью. Вирусы гриппа подразделены на три типа А, В и С. К типу А отнесены несколько подтипов, отличающихся друг от друга своими антигенами — гемагглютинином и нейраминидазой. Согласно классификации ВОЗ (1980 г.), вирусы гриппа человека и животных типа А разделены на 13 антигенных подтипов по гемагглютинину (H1–H13) и на 10 — по нейраминидазе (N1–N10). Из них в состав вирусов гриппа человека типа А входит три гемагглютинина (H1, H2 и H3) и две нейраминидазы (N1 и N2) (табл. 21.1). Однако недостатком данной

Таблица 21.1

Антигенная структура пандемических штаммов вирусов гриппа типа А

Наименование подтипа	Антигенная формула	Период циркуляции
A/Swine/1 76/31	H1N1	1918–1929 гг.
A/SWN/83, A/ 8/34	H1N1	1929–1946 гг.
A/M/1/47	H1N1	1947–1957 гг.
А/Сингапур/1/57	H1N2	1957–1968 гг.
А/Гонконг/1/68	H3N2	1968 г. — по наст. время
А/Хабаровск/90/77	H1N1	1977 г. — по наст. время

классификации является объединение в единый подтип H1 трех вирусов-возбудителей, разных по характеру вызываемых ими пандемий и эпидемий прошлых лет. Вирусы гриппа типов В и С имеют стабильные антигены, хотя гемагглютинин вируса гриппа В также претерпевает во времени антигенный дрейф. Номенклатура вирусов гриппа включает ряд обязательных показателей:

1) тип вируса (А. В и С);

2) естественный хозяин, если не человек (определенное животное);

3) географическое место выделения;

4) лабораторный номер штамма;

5) год выделения;

6) у вируса типа А в скобках указывается подтип гемагглютинина и нейраминидазы. Например, вирус гриппа А: Хабаровск/90/77 (H1N1).

Структура и химический состав. Вирус гриппа имеет сферическую форму, диаметром 80–120 нм. Реже встречаются нитевидные формы (рис. 21.12). Нуклеокапсид спиральной симметрии представляет собой рибонуклеопротеиновый (РНП) тяж, уложенный в виде двойной спирали, которая составляет сердцевину вириона. С ней связаны РНК-полимераза и эндонуклеазы (Р1 и Р3). Сердцевина окружена мембраной, состоящей из белка М, который соединяет РНП с двойным липидным слоем внешней оболочки и шиповидными отростками, состоящими из гемагглютинина и нейраминидазы.

Вирионы содержат около 1% РНК, 70% белка, 24% липидов и 5% углеводов. Липиды и углеводы входят в состав липопротеидов и гликопротеидов внешней оболочки и имеют клеточное происхождение. Геном вируса представлен минус-нитевой фрагментированной моле-

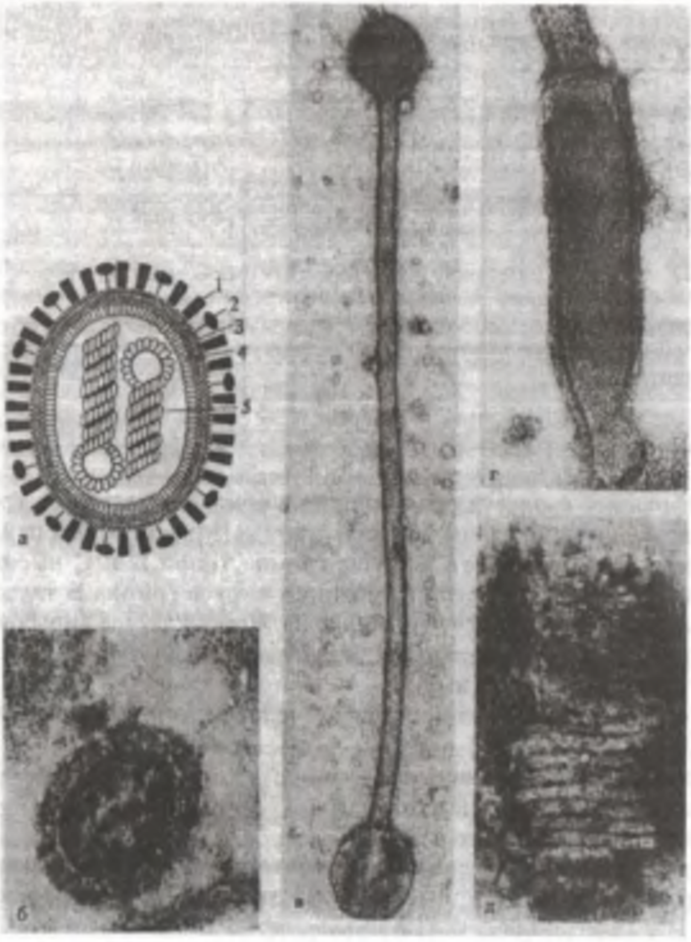


Рис. 21.12. Вирус гриппа:
а — модель вируса: 1 — нейраминидаза; 2 — гемагглютинин; 3 — внешняя оболочка; 4 — капсид; 5 — РНП; б — вирус гриппа (сферическая форма). ЭМ. Ультратонкий срез. Ув. 400 000; в — вирус гриппа (нитевидная форма). ЭМ. Ультратонкий срез. Ув. 200 000; г — фрагмент нитевидной формы. ЭМ. Ультратонкий срез. Ув. 250 000; д — РНП. Ув. 400 000

кулой РНК. Вирусы гриппа типов А и В имеют 8 фрагментов РНК. Из них 5 кодируют по одному белку, а 3 последних — по два белка каждый.

Антигены. Вирусы гриппа А, В и С отличаются друг от друга по типоспецифическому антигену, связанному с РНП (белок NP) и М-матриксным белком, стабилизирующим структуру вириона. Эти

антигены выявляются в РСК. Более узкую специфичность вируса типа А определяют два других поверхностных антигена — гемагглютинин Н и нейраминидаза N, обозначаемые порядковыми номерами (рис. 21.12).

Гемагглютинин является сложным гликопротеином, обладающим протективными свойствами. Он индуцирует в организме образование вируснейтрализующих антител — антигемагглютининов, выявляемых в РТГА. Изменчивость гемагглютинина (Н-антигена) определяет антигенный дрейф и шифт вируса гриппа. Под антигенным дрейфом понимают незначительные изменения Н-антигена, вызванные точечными мутациями в гене, контролирующем его образование. Подобные изменения могут накапливаться в потомстве под влиянием таких селективных факторов, как антитела. Это в конечном итоге приводит к количественному сдвигу, выражающемуся в изменении антигенных свойств гемагглютинина. При антигенном шифте происходит полная замена гена, в основе которой, возможно, лежат рекомбинации между двумя вирусами. Это приводит к смене подтипа гемагглютинина или нейраминидазы, а иногда обоих антигенов, и появлению принципиально новых антигенных вариантов вируса, вызывающих крупные эпидемии и пандемии.

Гемагглютинин является также рецептором, с помощью которого вирус адсорбируется на чувствительных клетках, в том числе эритроцитах, вызывая их склеивание, и участвует в гемолизе эритроцитов.

Вирусная нейраминидаза — фермент, катализирующий отщепление сиаловой кислоты от субстрата. Она обладает антигенными свойствами и в то же время участвует в освобождении вирионов из клетки хозяина. Нейраминидаза, подобно гемагглютинину, изменяется в результате антигенного дрейфа и шифта.

Культивирование и репродукция. Вирусы гриппа культивируются в куриных эмбрионах и в культурах клеток. Оптимальной средой являются куриные эмбрионы, в амниотической и аллантоисной полостях которых вирус репродуцируется в течение 36–48 ч. Наиболее чувствительными к вирусу гриппа являются первичные культуры клеток почек эмбриона человека и некоторых животных. Репродукция вируса в этих культурах сопровождается слабовыраженным ЦПД, напоминающим спонтанную дегенерацию клеток.

Вирусы гриппа адсорбируются на гликопротеиновых рецепторах эпителиальных клеток, в которые они проникают путем рецепторного эндоцитоза. В ядре клетки происходит транскрипция и репликация вирусного генома. При этом считываемые отдельные фрагменты РНК в виде *и*РНК транслируются на рибосомы, где происходит синтез вирусоспецифических белков. После репликации вирусного генома формируется фонд вирусных РНК, который используется при сборке новых нуклеокапсидов.

Патогенез. Первичная репродукция вируса происходит в эпителиальных клетках дыхательных путей. Через эрозированную поверхность слизистой оболочки вирус попадает в кровь, вызывая вирусемию. Циркуляция вируса в крови сопровождается повреждением эндотелиальных клеток кровеносных капилляров, в результате чего повышается их проницаемость. В тяжелых случаях наблюдаются кровоизлияния в легкие, сердечную мышцу и другие внутренние органы. Вирусы гриппа, попадая в лимфатические узлы, повреждают лимфоциты, следствием чего является приобретенный иммунодефицит, который способствует возникновению вторичных бактериальных инфекций.

При гриппе имеет место интоксикация организма различной степени тяжести.

Иммунитет. Механизм противогриппозного иммунитета связан с естественными факторами противовирусной неспецифической защиты, главным образом с продукцией интерферона и натуральными клетками-киллерами (*см. 11.7, 11.5*).

Специфический иммунитет обеспечивается факторами клеточного и гуморального ответа. Первые представлены макрофагами и Т-киллерами. Вторые — иммуноглобулинами, прежде всего антигемагглютининами и антинейроминидазными антителами, обладающими вируснейтрализующими свойствами. Последние в отличие от антигемагглютининов только частично нейтрализуют вирус гриппа, препятствуя его распространению. Комплементсвязывающие антитела к вирусному нуклеопротеину не обладают протективными свойствами и через 1,5 мес. исчезают из крови реконвалесцентов.

Антитела обнаруживаются в сыворотке крови через 3–4 суток после начала заболевания и достигают максимальных титров через 2–3 недели. Продолжительность специфического иммунитета, приобретенного после гриппозной инфекции, вопреки прежним представлениям, измеряется несколькими десятилетиями. К этому заключению пришли на основании изучения возрастной структуры заболеваемости гриппом, вызванным вирусом А (H1N1) в 1977 г. Было установлено, что данный вирус, отсутствовавший с 1957 г., поражал в 1977 г. только лиц не старше 20 лет.

Таким образом, после перенесения гриппозной инфекции, вызванной вирусом гриппа типа А, формируется напряженный иммунитет, строго специфический к тому подтипу вируса (по Н- и N-антигенам), который вызвал его образование.

Кроме того, новорожденные обладают пассивным иммунитетом, обусловленным антителами класса IgG к соответствующему подтипу вируса А. Иммунитет сохраняется в течение 6–8 мес.

Эпидемиология. Источником инфекции являются больные люди и вирусоносители. Передача возбудителя происходит воздушно-капельным путем. Грипп относится к эпидемическим инфекциям, которые

чаще возникают в зимние и зимне-весенние месяцы. Примерно через каждые десять лет эпидемии гриппа принимают характер пандемий, охватывающих население разных континентов. Это объясняется сменой Н- и N-антигенов вируса типа А, связанного с антигенным дрейфом и шифтом (см. табл. 21.1). Например, вирус гриппа А с гемагглютинином NSW1 вызвал в 1918 г. пандемию «испанки», унесшей 20 млн. человеческих жизней. В 1957 г. «азиатский» вирус гриппа (H2N2) вызвал пандемию, охватившую более 2 млрд. человек. В 1968 г. появился новый пандемический вариант — вирус гриппа А (H3N2), получивший название «гонконгский», который продолжает циркулировать до настоящего времени. В 1977 г. к нему присоединился вирус типа А (H1N1). Это оказалось неожиданным, поскольку идентичный вирус уже циркулировал в 1947–1957 гг., а затем был полностью вытеснен «азиатским» подтипом. В этой связи возникла гипотеза о том, что шифтовые варианты вируса не являются исторически новыми. Они представляют собой циркулирующие в прошедшие годы сероподтипы.

Прекращение циркуляции вируса гриппа, вызвавшего очередную эпидемию, объясняется коллективным иммунитетом населения, сформировавшимся к данному антигенному варианту возбудителя. На этом фоне происходит селекция новых антигенных вариантов, коллективный иммунитет к которым еще не сформировался.

Пока неясно, где сохраняются в течение длительного времени шифтовые антигенные варианты (сероподтипы) вируса гриппа типа А, вышедшие из активной циркуляции в тот или иной исторический период. Возможно, что резервуаром сохранения таких вирусов являются дикие и домашние животные, особенно птицы, которые инфицируются человеческими вариантами гриппозных вирусов типа А и поддерживают их циркуляцию в течение длительного времени. При этом в организме птиц происходят генетические рекомбинации между птичьими и человеческими вирусами, которые приводят к формированию новых антигенных вариантов.

По другой гипотезе вирусы гриппа всех известных подтипов постоянно циркулируют среди населения, но становятся эпидемически актуальными лишь при снижении коллективного иммунитета.

Вирусы гриппа типов В и С отличаются более высокой антигенной стабильностью. Вирусы гриппа типа В вызывают менее интенсивные эпидемии и локальные вспышки. Вирус гриппа типа С является причиной спорадических заболеваний.

Вирус гриппа быстро разрушается под действием температуры выше 56°C, УФ-излучения, дезинфектантов, детергентов. Он сохраняет свою жизнеспособность в течение 1 сут. при комнатной температуре, на гладких металлических и пластмассовых поверхностях — до 2 сут. Вирусы гриппа сохраняются при низких температурах (–70°C).

Специфическая профилактика. Для профилактики гриппа используют ремантадин, который подавляет репродукцию вируса гриппа типа А. Для пассивной профилактики применяют противогриппозный иммуноглобулин человека, полученный из сыворотки крови доноров, иммунизированных гриппозной вакциной. Определенный эффект оказывает человеческий лейкоцитарный интерферон.

Для вакцинопрофилактики используют живые и инактивированные вакцины. При введении живых вакцин формируется как общий, так и местный иммунитет. Кроме того, отмечается индукция интерферона.

В настоящее время получены инактивированные вакцины различных типов: вирионные, субъединичные, расщепленные и смешанные. Вирионные вакцины получают путем высококачественной очистки вирусов, выращенных в куриных эмбрионах. Субъединичные вакцины представляют собой очищенные поверхностные антигены вируса гриппа — гемагглютинины и нейраминидазу. Такие вакцинные препараты характеризуются пониженной реактогенностью и высокой иммуногенностью. Расщепленные или дезинтегрированные вакцины получают из очищенной суспензии вирионов путем обработки детергентами. Однако пока еще отсутствует единое мнение о преимуществе какой-либо одной из этих вакцин. Инактивированные вакцины индуцируют иммунный ответ в системе общего и местного гуморального иммунитета, но в меньшей степени по сравнению с живыми вакцинами индуцируют синтез интерферона.

Многолетний опыт применения живых и инактивированных вакцин свидетельствует о том, что антигенное несоответствие вакцинных штаммов эпидемическим служит основной, но не единственной причиной низкой эффективности вакцинопрофилактики гриппа. В последние годы предпринимаются попытки создания генноинженерных и синтетических гриппозных вакцин.

Лабораторная диагностика. Экспресс-методы диагностики гриппа основаны на выявлении вирусных антигенов в цитоплазме эпителиальных клеток слизистой оболочки носа и носоглотки в мазках-отпечатках с помощью ИФА (иммуноферментного анализа).

Выделение вируса проводится путем заражения вируссодержащим материалом (смывы из носоглотки в первые дни заболевания) куриных эмбрионов или культур клеток. Типовую принадлежность выделенного вируса определяют в РСК. Подтип гемагглютинина устанавливают в РТГА, подтип нейраминидазы — в реакции ингибирования нейраминидазной активности.

Для серодиагностики используют парные сыворотки от больных, взятые с интервалом в 8–14 дней: в начале заболевания и в период выздоровления. Нарастание титра вирусоспецифических антител устанавливают в РСК и РТГА и другими методами.

21.2. ДНК-СОДЕРЖАЩИЕ ВИРУСЫ

Патогенные для человека ДНК-содержащие вирусы входят в состав 6 семейств: Adenoviridae, Parvoviridae, Herpesviridae, Poxviridae, Hepadnaviridae и Papovaviridae. Последние описаны в разделе 21.4.

По сравнению с РНК-геномными вирусами они генетически более консервативны, т.е. менее изменчивы, нередко способны к длительной персистенции в организме хозяина. Подавляющее большинство ДНК-содержащих вирусов репродуцируется в ядрах клеток.

21.2.1. Семейство аденовирусов (Adenoviridae)

Аденовирусы были выделены в 1953 г. У. Роу и др. из культуры клеток аденоидов (миндалин) детей, в которых они вызывали ЦПД. В настоящее время известно более 90 серотипов аденовирусов млекопитающих. Из них 49 серотипов являются патогенными для человека.

Структура и химический состав. Нуклеокапсид вириона представляет собой сферические частицы диаметром 70–90 нм. Капсид построен из 252 капсомеров по кубическому типу симметрии в форме икосаэдра. От 12 вершин икосаэдра отходят отростки — фибры (нити). Внешняя оболочка отсутствует (рис. 21.13).

Аденовирусы состоят из ДНК и белков.

Геном аденовирусов состоит из двунитевой линейной ДНК с молекулярной массой 20–25 мД. С молекулой ДНК ковалентно связан внутренний белок, инициирующий репликацию ДНК. Внутренние белки в комплексе с ДНК формируют сердцевину вириона, расположенную под вершинами капсида.

Антигены. В составе капсида содержатся типоспецифические антигены — гликопротеиновые нити, которые обладают гемагглюти-

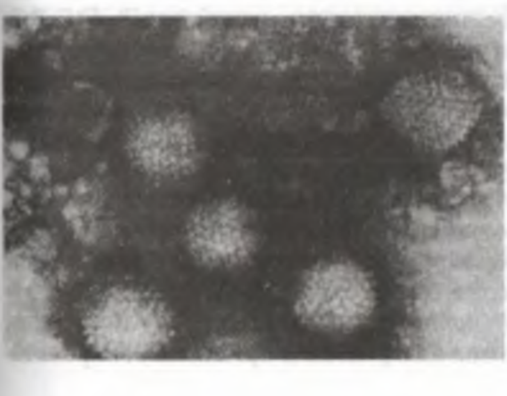


Рис. 21.13. Аденовирусы. ЭМ. Ультратонкий срез. Ув. 250 000. Видны отдельные капсомеры в капсиде вириона

нирующими свойствами. Нуклеокапсид вириона является комплементсвязывающим антигеном, идентичным для разных серотипов аденовирусов человека.

Культивирование и репродукция. Аденовирусы культивируют в первичной культуре клеток почки эмбриона человека, линии клеток Hela, Нер-2 и др. ЦПД аденовирусов связано не только с их репродукцией, но и прямым токсическим действием (см. рис. 5.10).

Аденовирусы адсорбируются на клеточных рецепторах с помощью нитей. Депротеинизация проникших в клетку вирионов начинается в цитоплазме и завершается в ядре, где освобождается ДНК с прикрепленным к ней терминальным белком.

Транскрипция генома и репликация вирусной ДНК происходят в ядре с помощью клеточных ферментов. Вначале синтезируются *и*РНК, кодирующие синтез вирусоспецифических ферментов, а затем *и*РНК, несущие информацию о синтезе капсидных белков и нитей. Сборка вирусных частиц происходит в ядре, где образуются кристаллоподобные включения. В каждой клетке синтезируется несколько сотен вирусных частиц. Выход аденовирусов сопровождается разрушением клетки хозяина. Цикл репродукции аденовирусов в клетке продолжается 14–24 ч.

Патогенез. В организме человека первичная репродукция аденовирусов происходит в эпителиальных клетках слизистой оболочки дыхательных путей и кишечника, в конъюнктиве глаза и в лимфоидной ткани (миндалины, мезентериальные лимфатические узлы). При циркуляции в крови аденовирусы поражают эндотелий сосудов. Это приводит к экссудативному воспалению слизистых оболочек, к образованию фибринозных пленок и некрозу. Аденовирусы могут проникать через плаценту, вызывая внутриутробные заболевания, аномалии развития плода, смертельные пневмонии новорожденных.

Чаще всего аденовирусы вызывают острые респираторные заболевания (фарингиты, ларингиты, трахеобронхиты). У детей и у пожилых людей могут развиться затяжные формы мелкоочаговой или интерстициальной аденовирусной пневмонии (серотипы 3, 4, 7, 14). Для аденовирусной инфекции характерно сочетанное поражение слизистой оболочки и лимфоидных тканей миндалин, аденоидов и конъюнктивы глаза (фарингоконъюнктивальная лихорадка). Нередки случаи эпидемических вспышек конъюнктивитов одного или обоих глаз (серотипы 3, 4, 8, 19). Аденовирусные конъюнктивиты и кератоконъюнктивиты нередко являются госпитальными инфекциями. Кишечные аденовирусы (серотипы 40, 41) вызывают у детей младшего возраста вспышки гастроэнтерита. В некоторых случаях наблюдаются длительная персистенция аденовирусов в организме человека и переход в хроническую форму инфекции (хронические тонзиллиты, гаймориты, ангины и др.). У детей возможна аллергизация организма, сопровож-

дающаяся развитием астматического бронхита и ларинготрахеита. Ряд серотипов аденовирусов индуцирует опухоли у животных.

Иммунитет. После перенесения заболевания формируется типоспецифический гуморальный иммунитет, связанный с синтезом антител класса IgM и IgG, в носовом секрете выявляются SIgA. Иммунитет не длительный, повторные заболевания наблюдаются у детей через 8–12 мес. после перенесения первичной инфекции.

Эпидемиология. Источником инфекции являются больные с острой или латентной аденовирусной инфекцией. Инфекция передается воздушно-капельным путем. «Кишечные» аденовирусы выделяются с фекалиями и распространяются фекально-оральным путем. Аденовирусные инфекции чаще поражают детей в возрасте от 6 мес. до 2 лет. Аденовирусы обладают сравнительно высокой устойчивостью к действию физических и химических факторов. Они способны длительное время сохранять инфекционность во внешней среде, особенно при пониженных температурах. Аденовирусы инактивируются через несколько минут при температуре выше 56°С и при УФ-облучении.

Профилактика. Для профилактики и раннего лечения аденовирусных инфекций применяют лейкоцитарный интерферон, а также фермент дезоксирибонуклеазу.

В США с успехом применяется живая аденовирусная вакцина для иммунизации военнослужащих.

Лабораторная диагностика. Для выявления вирусного антигена в эпителиальных клетках слизистой оболочки дыхательных путей применяют иммунофлюоресцентный и иммуноферментный методы, а в испражнениях — иммуноэлектронную микроскопию. Выделение аденовирусов проводится путем заражения чувствительных культур клеток с последующей идентификацией вируса в РСК, а затем в реакции нейтрализации и РТГА.

Серодиагностика проводится в тех же реакциях с парными сыворотками больных людей.

21.2.2. Семейство парвовирусов (Parvoviridae)

Семейство парвовирусов (лат. *parvus* — маленький) состоит из трех родов, два из которых (Parvovirus и Densovirus) патогенных для млекопитающих, птиц, насекомых. Третий род (Dependovirus) содержит так называемые дефектные вирусы, репродукция которых происходит только в присутствии вируса-«помощника».

Структура и химический состав. Парвовирусы представляют собой мелкие вирионы диаметром 18–26 нм, капсид которых построен по кубическому типу симметрии. Геном состоит из однонитевой ДНК. В составе вирусных частиц обнаружено 3 различных белка.

Парвовирусы высокоустойчивы к воздействию физических и химических факторов: в течение 1 ч сохраняют инфекционность при 60°С, не разрушаются детергентами, а также в среде с низкими значениями pH. Парвовирусы чувствительны к УФ-излучению.

Патогенез и иммунитет. Первоначально полагали, что к парвовирусам человека относятся только аденоассоциированные вирусы, репродукция которых происходит в присутствии аденовируса-«помощника». При этом присоединение аденоассоциированных вирусов к основному возбудителю осложняет течение аденовирусных инфекций.

Установлено существование других патогенных для человека парвовирусов из рода Parvovirus, способных к самостоятельной репродукции. Они обнаружены в фекальных массах, в синовиальной оболочке суставов при ревматоидном артрите (вирус RA-1), а также в сыворотке крови (вирус B19).

Наиболее патогенным для человека оказался вирус B19 — возбудитель инфекционной эритемы, поражающей суставы, и хронической гемолитической анемии. Заражение этим вирусом происходит воздушно-капельным путем. Первичная репродукция вируса, по-видимому, происходит в клетках респираторного эпителия, после чего он попадает в кровь и может быть выделен из нее в течение 1 недели. Одновременно с вирусемией развиваются клинические симптомы заболевания. Вирус репродуцируется в ядрах клеток костного мозга, поражая эритробласты и особенно ретикулоциты. Установлен тропизм возбудителя к эндотелию сосудов.

Считают, что возбудитель, подобно другим парвовирусам, способен оказывать эмбриопатическое действие и являться причиной мертворождений. Инфекция вирусом B19 широко распространена, поскольку антитела к вирусу обнаружены у 60% взрослого населения ряда европейских стран.

Иммунитет связан с появлением антител, обладающих вируснейтрализующей активностью.

Лабораторная диагностика. Основана на выявлении вирусоспецифической ДНК в материале от больных методом молекулярных зондов, на обнаружении вирусного антигена в пораженных клетках методом иммунофлюоресценции и определения титра антител в парных сыворотках.

Специфическая профилактика. Специфическая профилактика и лечение не разработаны.

21.2.3. Семейство герпесвирусов (Herpesviridae)

К данному семейству относится три подсемейства: Alphaherpesvirinae, Betaherpesvirinae и Gammaherpesvirinae.

Структура и химический состав. Вирионы обладают сферической формой с диаметром 140–210 нм. Нуклеокапсид окружен

внешней оболочкой (рис. 21.14). Капсид построен из 162 капсомеров.

Геном вируса представлен линейной двунитевой ДНК, которая состоит из двух ковалентно связанных между собой фрагментов, различных по величине и нуклеотидному составу. В геноме вирусов герпеса имеется около 80 генов.

В составе вириона обнаружено более 300 белков. Кроме того, в инфицированных клетках находится еще около 20 вирусоспецифических белков, которые не входят в состав вирусных частиц. Во внешней оболочке содержатся гликопротеины.

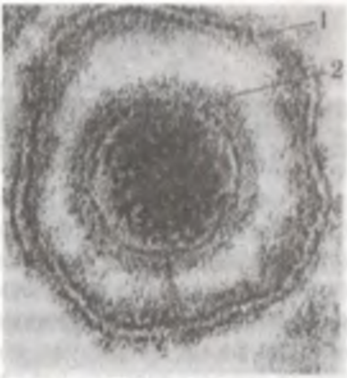


Рис. 21.14. Вирус герпеса.
ЭМ. Ультратонкий срез.
Ув. 250 000:
1 — внешняя оболочка с шиповидными отростками;
2 — нуклеокапсид

Антигены. Гликопротеины внешней оболочки являются типоспецифическими антигенами, позволяющими дифференцировать отдельные серотипы вирусов герпеса в реакциях нейтрализации, иммунофлюоресценции, РСК. Белки нуклеокапсида в основном несут группоспецифические антигенные эпитопы, одинаковые для отдельных вирусов герпеса, патогенных для человека или животных. Их выявляют в реакциях преципитации в иммунодиффузии.

Культивирование и репродукция. Вирусы герпеса культивируют в культурах клеток разного происхождения. При этом ЦПД различных представителей семейства широко варьирует. Характерно образование гигантских многоядерных клеток. Некоторые серотипы репродуцируются в куриных эмбрионах.

Вирусы герпеса проникают в чувствительные клетки путем рецепторного эндоцитоза, в процессе которого утрачивают внешнюю оболочку. Освободившийся нуклеокапсид транспортируется в ядро, где происходит его депротеинизация. Транскрипция вирусной ДНК происходит при участии клеточных транскриптаз, а ее репликация — с помощью вирусоспецифической ДНК-полимеразы.

Структурные белки транспортируются в ядро, где образуются нуклеокапсиды. Формирование вируса заканчивается в процессе почкования через модифицированные участки ядерной мембраны, когда нуклеокапсид покрывается внешней оболочкой. Синтез вирусов герпеса происходит на фоне резко ослабленного макромолекулярного синтеза компонентов клетки хозяина.

В ядрах инфицированных клеток формируются вирусспецифические эозинофильные включения, состоящие из кристаллизирующихся капсидов (рис. 21.15).

Рис. 21.15. Кристалические включения вируса герпеса в инфицированных клетках

Патогенез. Вирусы герпеса характеризуются полиорганным тропизмом. Общим в патогенезе всех инфекций, вызываемых вирусами герпеса, является их способность длительного персистировать в организме, вызывая хронические и латентные формы инфекции с периодическими обострениями. При этом вирус может сохраняться в клетках в виде провируса, интегрированного с геномом клетки. Некоторые вирусы герпеса передаются трансплацентарно, вызывая внутриутробную и неонатальную патологию.

Все представители семейства Herpesviridae характеризуются выраженным иммуносупрессивным действием, подавлением клеточных и гуморальных реакций иммунитета. Доказано формирование инфекционных комплексов с повреждающим действием и аллергизация организма.

Иммунитет к возбудителю носит преимущественно клеточный характер, рецидивы заболевания могут возникать на фоне высоких титров противовирусных антител в сыворотке больных.

21.2.3.1. Альфа-герпесвирусы

К данному подсемейству относятся два серотипа вируса простого герпеса — ВПГ-1 и ВПГ-2, которые имеют общие групповые антигены и сходные биологические признаки, а также вирус ветряной оспы и опоясывающего лишая (герпес-зостер).

В патогенезе, клинике и эпидемиологии заболеваний вызванных этими вирусами имеются существенные различия.

Патогенез. Вирус герпеса ВПГ-1 является возбудителем острого гингивостоматита и фарингита, афтозного стоматита, герпетической экземы, кератоконъюнктивита, менингоэнцефалита.

Вирус персистирует в ганглиях тройничного нерва.

При воздушно-капельном заражении первичная репродукция вируса происходит в клетках эпителия слизистой оболочки рта. При контактном заражении — в клетках кожи или конъюнктивы глаза. По лимфатическим сосудам вирус может попасть в кровь, вызывая в определенных случаях генерализованную инфекцию.

ВПГ-2 поражает преимущественно лиц, которые достигли половой зрелости, передаваясь половым путем, а также новорожденных, которые инфицируются при прохождении через родовые пути матери. ВПГ-2 вызывает генитальный герпес, герпес новорожденных, кроме того, ВПГ-2 нередко встречается при раке шейки матки.

Оба типа вируса, проникая в организм через поврежденную кожу, могут вызывать раневой герпес.

Иммунитет. При первичном иммунном ответе появляются типоспецифические вируснейтрализующие антитела класса IgM, которые в случае инфекции, вызванной ВПГ-2, нейтрализуют вирусы обоих серотипов. При вторичном иммунном ответе накапливаются IgG к этим же серотипам. Присутствие в сыворотке крови антител одновременно с вирусами герпеса свидетельствует о длительном вирусоносительстве. У здоровых лиц антитела к ВПГ-1 обнаружены в 90% случаев.

Эпидемиология. Вирусы герпеса являются неустойчивыми к действию физических и химических факторов. Они разрушаются органическими растворителями, детергентами протеолитическими ферментами. При 50–52°С инактивация наступает через 30 мин. На поверхностях различных предметов при комнатной температуре инфекционные свойства вирусов герпеса исчезают через несколько часов. Вирусы разрушаются под действием ультразвука, повторного замораживания и оттаивания, УФ-облучения. Источник инфекции — больные люди и носители. ВПГ-1 передается обычно контактным путем от матерей новорожденным и маленьким детям (от 6 мес. до 3 лет). Заболевание протекает в виде везикулярного стоматита. Кроме того, вирус может передаваться воздушно-капельным путем. Передача ВПГ-2 происходит половым путем. Новорожденные инфицируются во время родов.

Лабораторная диагностика. Для экспресс-диагностики готовят мазки-отпечатки из соскоба герпетических везикул, красят по Романовскому–Гимза и микроскопируют. При положительной реакции обнаруживают гигантские многоядерные клетки с внутриклеточными включениями.

Культивируют вирус в куриных эмбрионах, на хориоаллантоисной оболочке которых формируются бляшки. Кроме того, при заражении белых мышей в мозг развивается энцефалит, а кроликов в роговицу глаза — кератит.

Идентификацию вируса и серодиагностику проводят в реакциях нейтрализации, РСК, ИФА.

Профилактика и лечение. Разработаны инактивированные вакцины, многократное введение которых уменьшает чистоту возникновения рецидивов герпетической инфекции.

Для лечения применяют ацикловир.

Вирус ветряной оспы опоясывающего лишая (герпес-зостер)

Один и тот же вирус вызывает оба заболевания, различающиеся по клинике и эпидемиологии. По своим свойствам этот вирус идентичен или близок к другим представителям семейства Herpesviridae.

Патогенез и иммунитет. При ветряной оспе входными воротами инфекции является слизистая оболочка дыхательных путей, в эпителиальных клетках которой происходит первичная репродукция вирусов. По лимфатическим сосудам они попадают в кровь, вызывая вирусемию. С кровью заносятся в эпителиальные клетки кожи и слизистых оболочек, в результате чего появляются везикулярные высыпания на лице, туловище, конечностях, слизистой оболочке рта.

При мацерации пузырьков вирус легко передается окружающим аэрозольным и реже контактным путем. При заболевании женщин в первые 3 мес. беременности существует риск возникновения у ребенка врожденных дефектов.

Полагают, что после перенесения ветряной оспы в детском возрасте вирус может сохраняться в течение нескольких лет в клетках ганглиев задних корешков спинного мозга.

При опоясывающем лишае на коже туловища, головы, шеи появляются везикулярные высыпания. Возможна трансплацентарная передача вируса, которая приводит к патологии плода. У людей, перенесших в детском возрасте ветряную оспу, формируется пожизненный иммунитет. В сыворотке крови циркулируют вируснейтрализующие и комплементсвязывающие антитела. Однако они не могут предотвратить рецидивы болезни, поскольку очаг персистирующей инфекции сохраняется в ганглиях спинного мозга. Вместе с тем отмечается увеличение Т-супрессоров, которые, возможно, являются причиной вторичного иммунодефицита.

Лабораторная диагностика. Выделение вируса проводится в культуре клеток фибробластов эмбриона человека с последующей идентификацией вируса в РСК. Эту же реакцию используют для серодиагностики ветряной оспы.

Специфическая профилактика. Получена живая вакцина для иммунизации детей в раннем возрасте. В очагах инфекции рекомендуется применение иммуноглобулинов, полученных из крови реконвалесцентов.

Для лечения опоясывающего лишая используют интерферон.

21.2.3.2. Бета-герпесвирусы

К данному подсемейству относится цитомегаловирус (ЦМВ). В отличие от альфа-герпесвирусов, он содержит большую по молекулярной массе ДНК, имеет более продолжительный цикл репродукции и культивируется в культуре фибробластов человека, вызывая незначительные цитопатические изменения клеток.

Патогенез. Характерной особенностью ЦМВ является его способность образовывать гигантские клетки (20–24 мкм), содержащие включения. Он способен поражать все органы и ткани, вызывая бессимптомное носительство, либо клинически выраженное заболевание.

Особое значение имеет способность ЦМВ инфицировать иммунокомпетентные клетки и персистировать в них.

Кроме того, ЦМВ имеет сродство к клеткам слюнных желез и почек, вызывая в них образование крупных внутриядерных включений. ЦМВ вызывает перинатальную инфекцию у 1% новорожденных. При острых формах повреждаются внутренние органы (печень, почки, головной мозг), при подострой форме развивается атипичная интерстициальная пневмония. Диссеминированные поражения наблюдаются после внутриутробного заражения, а также переливания ребенку препаратов крови инфицированных ЦМВ. Латентная инфекция может быть активирована беременностью, множественными гемотрансфузиями. ЦМВ может проходить через плаценту, вызывая мертворождение или уродства. Полагают, что 1–2% новорожденных инфицированы ЦМВ.

Активация латентной инфекции у взрослых обычно наблюдается при иммунодепрессивной терапии, вторичных иммунодефицитных состояниях, СПИДе. При этом имеют место вируссемия, поражения внутренних органов органов, костного мохга, ЦНС, развитие иммунопатологических реакций.

Эпидемиология. Возбудитель патогенен только для человека. Вирус передается через плаценту, при прохождении через родовые пути матери, с материнским молоком, при трансплантации органов. Более 20% детей первых лет жизни выделяют ЦМВ с мочой и слюной.

Лабораторная диагностика. Материал для исследования: осадок мочи, слюна, почечные биоптаты, спинномозговая жидкость. Из осадка приготовляют мазки, которые окрашивают гематоксилином-эозином или другими красками для выявления типичных гигинтских клеток.

Вирус выделяют в культуре фибропластов эмбриона человека, главным образом из мочи с последующей идентификацией в РСК, реакции нейтрализации.

Серодиагностику проводят в РСК, РПГА, РН обычно при подозрении на врожденную инфекцию. При иммунофлюоресценции и гибридизации ДНК наличие вируса устанавливают через 24 ч.

Профилактика и лечение. Вакцинация проводится живыми вакцинами, иногда в сочетании с вакциной против краснухи. Для лечения используют ацикловир, аномальные нуклеозиды, а также иммуномодуляторы (левомизол).

21.2.3.3. Гамма-герпесвирусы

К данному подсемейству относятся вирус Эпштейна–Барр, вызывающий инфекционный мононуклеоз, лимфому Беркитта и саркому Капоши у больных СПИДом (*см. 21.4*).

Патогенез инфекционного мононуклеоза характеризуется репликацией вируса в верхних дыхательных путях и региональных лимфоузлах. Возбудитель индуцирует появление популяции реактивных Т-клеток (атипичные лимфоциты), поликлональную активацию В-клеток и их дифференцировку в плазмоциты. При этом геном вируса может сохраняться в В-лимфоцитах. Подобная латентная инфекция встречается у многих людей.

Эпидемиология. Единственным источником инфекции является человек. Вирус передается воздушно-капельным, реже трансмиссивным, либо половым путем.

21.2.4. Семейство поксвирусов (Poxviridae)

В многочисленное семейство поксвирусов (лат. *pox* — пустула) включены вирусы, патогенные для млекопитающих, птиц, рыб, амфибий и насекомых.

Главное значение в патологии имеют вирус натуральной оспы, а также вирус контагиозного моллюска, вирус оспы обезьян, вирус оспы коров (осповакцина).

Вирус натуральной оспы (ВНО) является возбудителем грозных эпидемий, известных человечеству в течение нескольких тысячелетий. В 1892 г. Г. Гварниери описал околоядерные включения (тельца Гварниери) в клетках роговицы глаза инфицированного кролика, а в 1906 г. Э. Пашен обнаружил вирусные корпускулы (элементарные тельца Пашена) в жидкости оспенных везикул, использовав для этого особый метод окраски.

Структура и химический состав. ВНО является самым крупным — 200–300 нм, имеет кирпичеобразную форму с закругленными углами. При окраске по методу Пашена или Морозова вирусы становятся различимыми в световом микроскопе в виде мелких зерен.

Вирионы имеют сложное строение (рис. 21.16). В центре располагается сердцевина в форме гантели, которая окружена белковым капсидом. В ней содержатся ДНК, внутренние белки. К центру сердцевины примыкают два латеральных тела, функция которых неизвестна. Наружная оболочка вириона содержит липиды и трубчатые белковые структуры, образующие характерные выступы.

ДНК представлена двунитевой нефрагментированной молекулой, содержащей десятки генов.

В составе вириона содержится 30 белков, и около 50 белков находятся в инфицированных клетках. Свыше 10 вирусных белков являются ферментами, катализирующими преимущественно нуклеиновый синтез: ДНК-зависимая РНК-полимераза, нуклеозид-трифосфатфосфогидролаза, ДНК-аза и др.

Рис. 21.16. Вирион вируса натуральной оспы (схема):
1 — внешняя оболочка;
2 — сердцевина вириона (нуклеокапсид в виде S-образной структуры);
3 — боковое (латеральное) тело;
4 — вирусоплазма (пространство между внешней оболочкой и сердцевиной)

Антигены. Нуклеопротеиновый антиген NP, общий для всего семейства, располагается в сердцевине вириона. Во внешней оболочке содержатся гликолизированные белки, являющиеся протективными антигенами. Это вирусный гемагглютинин, имеющий липопротеидную природу, термолабильный и термостабильный растворимые антигены.

Культивирование и репродукция. Вирус культивируется в куриных эмбрионах, на хорионаллантоисной оболочке которых образуются белые вирусные бляшки-оспины, а также в первичных и перевиваемых культурах клеток человека и животных (обезьян, свиней, овец и др.), с характерным ЦПД в виде очаговой дегенерации клеточного пласта. Идентификация вируса проводится в реакции гемадсорбции. Цикл репродукции завершается за 6–7 ч. В цитоплазме клеток формируются круглые или серповидные включения — тельца Гварниери, которые располагаются в околоядерной зоне цитоплазмы. Аналогичные включения обнаружены в оспенных пустулах человека. Это имеет диагностическое значение.

Репродукция вируса начинается с транскрипции сверхранних *и*РНК, кодирующих синтез «раздевающего» белка (он завершает депротеинизацию вирионов), после чего синтезируются ранние *и*РНК, транслирующие информацию о синтезе вирусспецифической репликазы. С дочерних молекул ДНК транслируется информация о синтезе многочисленных структурных и функциональных вирусных белков. Формирование вирионов происходит в цитоплазме клетки хозяина. Зрелые вирионы доставляются через аппарат Гольджи к клеточной оболочке и при выходе из клетки приобретают двухслойную внешнюю оболочку из компонентов клетки хозяина.

Патогенез и иммунитет. Вирус проникает в организм через слизистую оболочку верхних дыхательных путей и локализуется в регионарных лимфатических узлах. После первичной репродукции поступает в кровь, разносится по всему организму и локализуется в клетках лимфоидной ткани, в которых происходит вторичная репродукция вируса.

Вирус выделяется из крови только в первые дни болезни. Кожные поражения появляются после его проникновения из крови в

клетки эпидермиса. Образующиеся на коже пустулы могут быть контаминированы стафилококком, что приводит к бактериемии и даже сепсису.

Интенсивное выделение вируса из организма происходит с 6-го по 9-й день болезни из очагов поражения слизистых оболочек рта. На месте пустул развивается некроз кожи, в результате у перенесших заболевание остаются рубцы. В клетках кожи появляются цитоплазматические, ацидофильные включения — тельца Гварниери.

Новорожденный получает материнские антитела, которые исчезают через несколько месяцев после рождения. После заболевания развивается пожизненный постинфекционный иммунитет. При вакцинации антитела появляются через 8–9 дней и достигают максимальных титров через 3 недели.

Механизм иммунитета связан как с вируснейтрализующими антителами, так и с клеточными факторами. В клеточном иммунитете большую роль играет реакция ГЗТ, которая подавляет репродукцию вируса и его распространение в организме, и интерферон.

Эпидемиология. Вирус устойчив к высушиванию. Он длительное время остается жизнеспособным в корочке пустул, в жидкости везикул, инфицируя соприкасающиеся с ними предметы. Вирус оспы устойчив к действию обычных концентраций дезинфектантов. При нагревании до 50°С инактивируется в течение 30 мин., при 100°С — через несколько секунд. Источником инфекции являются больные люди в течение всего периода болезни. Инфекция передается воздушно-капельным и контактным путем через предметы обихода и одежду больного.

В прошлом эпидемии оспы возникали во многих странах мира. В нашей стране она ликвидирована к 1937 г. Однако отдельные заносные случаи заболеваний регистрировались до 1960 г. В 1967 г. ВОЗ разработала план мероприятий по ликвидации оспы в мире, который успешно был воплощен в жизнь при активном участии нашей страны. Последний случай заболевания был зарегистрирован в Сомали в 1977 г. Однако в конце 70-х годов в странах Экваториальной Африки наблюдались заболевания вызванные вирусом оспы обезьян, который до этого считали непатогенным для человека. В настоящее время по рекомендации ВОЗ обязательная вакцинация против оспы отменена.

Лабораторная диагностика. Для экспресс-диагностики в острый период заболевания используют вирусоскопию, иммунофлюоресцентный метод и выявление антигенов в инфекционном материале. Выделяют вирус путем заражения куриных эмбрионов и перевиваемых культур клеток человека. Серодиагностику проводят в РТГА, РСК и реакции нейтрализации.

21.2.4.1. Другие поксвирусы, патогенные для человека

Вирус оспы обезьян близок по биологическим и антигенным свойствам к ВНО человека. Основными его хозяевами являются обезьяны. Заражение возможно не только от обезьян, но и от больных людей обычно воздушно-капельным путем. Симптомы болезни напоминают легкую форму натуральной оспы. Не исключена возможность, что данный вирус явится родоначальником новой формы вируса оспы, высокопатогенного для человека.

Вирус осповакцины (коровьей оспы) может вызывать у человека острое инфекционное заболевание, сопровождающееся лихорадкой, интоксикацией и сыпью. Возможно поражение ЦНС. Человек заражается от больных коров контактным путем. Чаще болеют доярки. Передача вируса от человека к человеку, как правило, не происходит.

Вирус осповакцины, обладающий идентичными антигенными свойствами с ВНО человека, в течение многих десятилетий используется в качестве живой вакцины, а в современных условиях является одним из векторов в генной инженерии (см. 6.11).

Чувствительность человека к вирусам оспы обезьян и коров зависит от уровня противооспенного иммунитета.

Вирус контагиозного моллюска является неклассифицированным поксвирусом, патогенным только для человека. Он репродуцируется в культурах клеток человека. Вызывает образование красных узелков на коже в области гениталий, которые превращаются в нагноившиеся папулы. Обильные высыпания наблюдаются у людей с иммунодефицитными состояниями, например при СПИДе. Передача вируса происходит при прямом и непрямом контактах.

21.3. ВИРУСЫ ГЕПАТИТА

К гепатоцитотропным вирусам, вызывающим гепатит у людей, относятся разнообразные ДНК- и РНК-содержащие вирусы, принадлежащие к разным семействам (табл. 21.2). Это ДНК-содержащий вирус гепатита В и группа РНК-содержащих вирусов: вирус гепатита D (дельта-вирус), вирусы гепатита А, С и Е.

21.3.1. Вирус гепатита А (HAV)

Возбудитель гепатита А (HAV — Hepatitis A virus) относится к семейству пикорнавирусов, роду энтеровирусов. Вызывает наиболее распространенный вирусный гепатит, который имеет несколько исторических названий (инфекционный, эпидемический гепатит, болезнь Боткина и др.). В нашей стране около 70% случаев вирусного

Таблица 21.2

Сравнительная характеристика вирусов гепатита человека

Название вируса	Размеры вириона, нм	Семейство	Тип нуклеиновой кислоты	Наличие суперкапсида	Онкогенность	Культивируемость в клеточных культурах	Пути передачи
Вирус гепатита А (HAV)	27–32	Picarnaviridae	Однонитевая плюс-РНК	–	–	Перевиваемая культура гепатомы	Фекально-оральный (вода, пища)
Вирус гепатита В (HBV)	42–52	Hepadnaviridae	Кольцевая, двунитевая, неполная	+	+	–	Парэнтеральный, половой
Вирус гепатита С (HCV)	80	Flaviviridae	Однонитевая плюс-РНК	+	+	–	Парэнтеральный, половой
Вирус гепатита D (дельта-вирус)	36	Неклассифицированный	Однонитевая РНК	–	–	Дефектный вирус	Парэнтеральный
Вирус гепатита Е (HEV)	32–34	Calciviridae	Однонитевая плюс-РНК	–	–	–	Фекально-оральный (вода)

гепатита вызывается вирусом гепатита А. Вирус впервые был обнаружен С. Фейстоуном в 1979 г. в фекалиях больных методом иммунной электронной микроскопии.

Структура и химический состав. По морфологии и структуре вирус гепатита А близок ко всем энтеровирусам (*см. 21.1.1.1*). В РНК вируса гепатита А обнаружены нуклеотидные последовательности, общие с другими энтеровирусами.

Вирус гепатита А имеет *один вирусспецифический антиген* белковой природы. HAV отличается от энтеровирусов более высокой устойчивостью к действию физических и химических факторов. Он частично инактивируется при нагревании до 60°С в течение 1 ч, при 100°С разрушается в течение 5 мин., чувствителен к действию формалина и УФ-излучению.

Культивирование и репродукция. Вирус гепатита обладает пониженной способностью к репродукции в культурах клеток. Однако его удалось адаптировать к перевиваемым линиям клеток человека и обезьян. Репродукция вируса в культуре клеток не сопровождается ЦПД. HAV почти не выявляется в культуральной жидкости, поскольку ассоциирован с клетками, в цитоплазме которых он репродуцируется.

Патогенез и иммунитет. HAV так же, как и другие энтеровирусы, с пищей попадает в желудочно-кишечный тракт, где репродуцируется в эпителиальных клетках слизистой оболочки тонкой кишки и регионарных лимфатических узлах. Затем возбудитель проникает в кровь, в которой он обнаруживается в конце инкубационного периода и в первые дни заболевания.

В отличие от других энтеровирусов основной мишенью поражающего действия HAV являются клетки печени, в цитоплазме которых происходит его репродукция. Не исключена возможность поражения гепатоцитов NK-клетками (натуральными киллерами), которые в активированном состоянии могут взаимодействовать с ними, вызывая их разрушение. Активация NK-клеток происходит и в результате их взаимодействия с интерфероном, индуцированным вирусом. Поражение гепатоцитов сопровождается развитием желтухи и повышением уровня трансаминаз в сыворотке крови. Далее возбудитель с желчью попадает в просвет двенадцатиперстной и тонкой кишки и выделяется с фекалиями, в которых отмечается высокая концентрация вируса в конце инкубационного периода и в первые дни заболевания (до развития желтухи). Гепатит А обычно заканчивается полным выздоровлением, летальные исходы редки.

После перенесения клинически выраженной или бессимптомной инфекции формируется пожизненный гуморальный иммунитет, связанный с синтезом противовирусных антител. Иммуноглобулины класса IgM исчезают из сыворотки через 3–4 мес. после начала заболевания, в то время как IgG сохраняются в течение многих лет. Установлен также синтез секреторных иммуноглобулинов SIgA.

Эпидемиология. Источником инфекции являются больные люди, в том числе и с распространенной бессимптомной формой инфекции. Вирус гепатита А широко циркулирует среди населения. На Европейском континенте сывороточные антитела против HAV содержатся у 80% взрослого населения, достигшего 40-летнего возраста. В странах с низким социально-экономическим уровнем инфицирование происходит уже в первые годы жизни. Гепатитом А часто болеют дети.

Больной наиболее опасен для окружающих в конце инкубационного периода и в первые дни разгара болезни (до появления желтухи) в связи с максимальным выделением вируса с фекалиями. Основной механизм передачи — фекально-оральный — через пищу, воду, предметы обихода, детские игрушки.

Лабораторная диагностика проводится путем выявления вируса в фекалиях больного методом иммуноэлектронной микроскопии. Вирусный антиген в фекалиях может быть также обнаружен с помощью иммуноферментного и радиоиммунного анализа. Наиболее широко применяется серодиагностика гепатита — выявление теми же

методами в парных сыворотках крови антител класса IgM, которые достигают высокого титра в течение первых 3–6 недель.

Профилактика. Вакцинопрофилактика гепатита А проводится в разных странах. Испытываются инактивированная и живая культуральные вакцины, производство которых затруднено в связи со слабой репродукцией вируса в культурах клеток. Наиболее перспективной является генно-инженерная вакцина. Для пассивной иммунопрофилактики гепатита А используют иммуноглобулин, полученный из донорских сывороток.

21.3.2. Вирус гепатита В (HBV)

Впервые частицы вируса гепатита В были обнаружены Д. Дейном в 1970 г. и впоследствии названы частицами Дейна.

Структура и химический состав. Вирионы, или частицы Дейна, имеют сферическую форму диаметром 42 нм. Сердцевина вириона — нуклеокапсид в форме икосаэдра — состоит из 180 капсомеров. Снаружи он окружен липосодержащей внешней оболочкой (рис. 21.17). В состав вириона входят ДНК, белки, ферменты липиды и углеводы.

Структура генома HBV необычна. Он состоит из кольцевой двунитевой молекулы ДНК, которая в отличие от ДНК других вирусов имеет однонитевой участок (см. рис. 21.17). Его длина непостоянна и составляет 15–60% длинной цепи. Кольцевая молекула ДНК может принимать линейную форму. В изолированном виде она не обладает инфекционными свойствами. В составе вирусного генома обнаружено около 6 генов, которые контролируют образование антигенов, структурных белков и не менее двух ферментов (ДНК-полимераза, протеинкиназа) (рис. 21.18).

Антигены. В составе вируса гепатита В обнаружено 4 антигена: HBs, HBc, Нве и HBx.

HBs-антиген (ранее именовался австралийским антигеном) представляет собой гликопротеин с липидным компонентом, который содержится во внешней оболочке вириона. В его составе обнаружено два полипептидных фрагмента. Один из них ($preS_2$) является полиглобулиновым рецептором, ответственным за адсорбцию вируса на аналогичных рецепторах гепатоцитов. Он связывается с сывороточным альбумином, который при полимеризации превращается в полиальбумин. Таким образом, в составе внешней оболочки вируса гепатита В имеются те же полиальбумины, которые содержатся в сыворотке крови человека. Второй фрагмент ($preS_1$) обладает выраженными иммуногенными свойствами. Этот пептид, полученный генноинженерными методами, может быть использован для приготовления вакцины. HBs-антиген обнаруживается в крови.

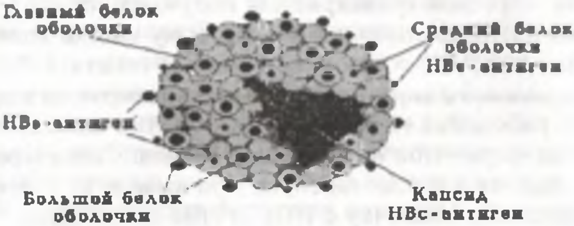


Рис. 21.17. Полная вирусная частица гепатита В в разрезе

Рис. 21.18. Структура генома и кодируемые им белки

HBc-антиген является нуклеопротеином. Он содержится в сердцевине вирионов, находящихся в ядрах гепатоцитов и не поступает в кровь.

HBe-антиген отщепляется от HBc-антигена при его прохождении через мембрану гепатоцитов, вследствие чего обнаруживается в крови.

HBx-антиген наименее изучен. Возможно, он имеет отношение к раковой трансформации гепатоцитов.

В организме больных гепатитом В синтезируются антитела к трем антигенам HBs, HBc, HBe.

Репродукция. Вирус гепатита В не репродуцируется в культурах клеток и куриных эмбрионов. Репликация и транскрипция вирусного генома происходит в ядрах гепатоцитов. При этом короткая цепь в кольцевой молекуле ДНК достраивается по длинной цепи с помощью вирусной ДНК-полимеразы, после чего начинается репликация обеих нитей. Необычным является возможность транскрибирования с вирусной ДНК молекулы РНК, выполняющей функцию матрицы для синтеза вирусной ДНК путем обратной транскрипции. Это происходит при участии вирусиндуцированной обратной транскриптазы. Данный процесс, понятный в случае РНК-содержащих вирусов, которые

с помощью обратной транскрипции получают возможность встроить свой геном (ДНК-транскрипт) в хромосому клетки хозяина, остается загадочным для ДНК-содержащего вируса гепатита В.

Одновременно с вирусного генома транслируется информация для синтеза на рибосомах гепатоцитов НВс- и HBs-антигенов, вирусоспецифических ферментов и капсидных белков. Синтезированные нити ДНК собираются в нуклеокапсиды. При выходе из клетки они приобретают внешнюю оболочку с HBs- и НВс-антигенами.

Патогенез и иммунитет. Поскольку входными воротами инфекции при гепатите В являются кровеносные сосуды, вирус сразу же попадает в кровь, с которой разносится по всему организму, фиксируясь прежде всего на гепатоцитах. Однако репродукция вируса не сопровождается цитолизом данных клеток. Это свидетельствует о том, что вирус гепатита В не обладает прямым цитопатическим действием, а патологический процесс в печени возникает не с момента внедрения возбудителя в гепатоциты, а только после распознавания иммуноцитами его антигенов на наружной мембране этих клеток. Таким образом, поражение клеток печени при гепатите В является иммунообусловленным.

Многообразие патогенетических форм данного заболевания (острые, подострые, хронические или персистирующие) определяется антигенами возбудителя и характером его взаимодействия с гепатоцитами, в результате которого развивается продуктивная или интегративная инфекция, с одной стороны, формой иммунного ответа и выраженностью иммунопатологических процессов — с другой.

При острых формах гепатита В подавляется активность Т-хелперов, при хронических — в процесс вовлекаются Т-супрессоры. При стабильном подавлении клонов Т-супрессоров формируются условия для развития аутоиммунных реакций направленных против собственных клеточных антигенов и прежде всего печеночного липопротеина. При ингибировании Т-хелперов нарушается распознавание вирусных антигенов, что в конечном итоге приводит к подавлению антителообразования.

В то же время HBV наряду с гепатоцитами может взаимодействовать с макрофагами и даже встраивать свою ДНК в их клеточный геном. При нормальном развитии иммунного ответа представленные на мембране макрофагов вирусные антигены индуцируют гуморальный ответ, который заканчивается синтезом HBs-, НВс-, НВе-антител. Это приводит к формированию напряженного гуморального иммунитета, вследствие чего повторные заболевания встречаются редко.

При поражении HBV макрофагов так же, как и Т-хелперов, возникают дефекты в системе распознавания антигенов, что сопровождается развитием иммунодефицитных состояний, являющихся основной причиной персистирующих форм гепатита В.

Интеграция вирусной ДНК в геном гепатоцитов происходит как при острой, так и хронической форме гепатита. При этом она носит случайный характер, так как в каждом случае в хромосому гепатоцитов встраивается неопределенный участок вирусной ДНК. При этом интегрированная вирусная ДНК может оказаться дефектной, что делает невозможным экспрессию ее генов, в том числе и тех, которые контролируют образование антигенов. При интеграции полноценной вирусной ДНК синтезируются вирусные антигены, из которых HBs поступают в кровь. При том реакции иммунного цитолиза не происходит вследствие отсутствия «мишени» на мембране гепатоцитов для Т-киллеров и NK-клеток. Упомянутые клетки атакуют лишь гепатоциты, несущие НВс-антиген: чем больше данного антигена представлено на их мембране, тем интенсивнее они разрушаются в результате иммунного цитолиза. При этом происходит массовый выход вирусов из разрушенных клеток и генерализация инфекции. После перенесения гепатита В может развиться гепатома.

Эпидемиология. Источником инфекции являются больные люди и вирусоносители. Считается, что около 5% населения нашей планеты являются вирусоносителями, судя по выявлению у них в крови HBs-антигена. Заражение вирусом гепатита В часто происходит при медицинских манипуляциях в результате парентерального попадания хотя бы следов инфицированной крови в организм здорового человека. Это имеет место при переливании донорской крови, использовании недостаточно простерилизованных шприцев и других медицинских инструментов, взятии крови для анализов, массовых прививках и т.д.

Доказана передача возбудителя при половом контакте. Кроме того, может произойти трансплацентарное заражение плода, а также новорожденных при прохождении через инфицированные родовые пути матери.

Основные группы риска — медицинские работники, лица, получающие гемотрансфузии или препараты крови, наркоманы, больные гемофилией, гомосексуалисты и проститутки.

Вирус гепатита В обладает необыкновенно высокой устойчивостью к высоким температурам: выдерживает кипячение в течение 15–20 мин., а при 60°С — до нескольких часов. Инфекционные и антигенные свойства вируса сохраняются после УФ-облучении плазмы крови и ее хранении при — 20°С. Вирус чувствителен к формалину и детергентам.

Лабораторная диагностика. Серологическая диагностика основана на выявлении вирусных антигенов и антител к ним иммуноферментным или радиоиммунным методом. Основное диагностическое значение имеет определение в сыворотке больных HBs-антигена, которые появляется в инкубационном периоде и исчезает при благоприятном течении острого гепатита через 6–8 мес. после начала заболевания. Однако при переходе заболевания в хроническую форму

и при вирусоносительстве данный антиген циркулирует в крови длительное время.

Динамика синтеза антител против различных антигенов не одинакова: в продромальный период появляются HBc-антитела, затем — HBe-антитела и лишь в последнюю очередь после исчезновения HBs-антигенов из крови — HBs-антитела. По наличию антител к тем или иным антигенам вируса можно судить о периоде заболевания. Для постановки диагноза острого гепатита B важное значение имеет обнаружение антител класса IgM против HBc-антигена. В настоящее время используют метод выявления ДНК вируса гепатита B из исследуемого материала.

Специфическая профилактика. Существует вакцина первого поколения, полученная из плазмы крови хронических носителей HBs-антигенов. Она состоит из частиц HBs-антигенов и является достаточно эффективной, хотя ее производство затруднено из-за ограниченных резервов исходного материала — плазмы крови. Широкое использование вакцин первого поколения позволило выработать тактику вакцинации.

Вакцины нового поколения получены генноинженерным путем при встраивании гена, контролирующего образование HBs-антигенов, в генном клеток эукариот или вируса осповакцины.

21.3.3. Вирус гепатита D (дельта-вирус)

Дельта-вирус — возбудитель гепатита, впервые был обнаружен в 1977 г. в ядрах гепатоцитов у больных хроническим гепатитом B. Частица вируса имеет сферическую форму диаметром около 36 нм. Ее сердцевина содержит РНК и внутренний белок (D-антиген), представляющий собой единственный вирусоспецифический продукт генома дельта-вируса. Внешняя оболочка последнего содержит HBs-антиген.

Геном дельта-вируса представлен однонитевой молекулой РНК. Необычайно малым геномом этого вируса можно объяснить его *дефектность*, проявляющуюся в неспособности к самостоятельной репликации в гепатоцитах хозяина. Для репродукции данного вируса необходимо участие вируса-«помощника», роль которого играет вирус гепатита B (HBV). Облигатная связь обоих вирусов определяет возможность возникновения инфекции, которая проявляется либо при одновременном заражении этими вирусами, либо при суперинфицировании дельта-вирусом больного гепатитом B.

Механизм повреждающего действия дельта-вируса на гепатоциты, по-видимому, связан с прямым цитопатическим действием в отличие от HBV. При этом сочетанное действие обоих вирусов приводит к развитию более тяжелых форм патологического процесса.

Эпидемиология гепатита, вызываемого дельта-вирусом, практически не отличается от эпидемиологии гепатита В. Дельта-вирус, так же как HBV, передается парентеральным путем.

Серологическая диагностика дельта-инфекции основывается на выявлении антител к антигену вируса в сыворотке крови иммуноферментным или радиоиммунным методами.

Специфическая профилактика не разработана.

Вирусы гепатита ни А ни В. К этой группе относится ряд вирусов, являющихся возбудителями таких форм вирусных гепатитов, которые по своим клиническим и эпидемиологическим особенностям отличаются от гепатитов А, В, а также гепатита, вызываемого дельта-вирусом. В то же время эти вирусы не имеют специфических антигенов, свойственных HAV и HBV.

Наиболее изученными из них являются вирусы гепатита С и Е.

21.3.4. Вирус гепатита С (HCV)

HCV относится к семейству Flaviviridae. Содержит однонитевую плюс-РНК. Размер вирусной частицы менее 80 нм, имеет суперкапсид.

Гепатит С чаще протекает в субклинической форме. Однако у 70% больных развивается хронический гепатит, осложняющийся во многих случаях циррозом печени или гепатомой.

Источник инфекции — человек. Вирус передается так же, как и вирус гепатита В парентеральным или половым путем.

Лабораторная диагностика основана на обнаружении антигена или противовирусных антител путем иммуноферментативного анализа либо другими методами. Антитела выявляются на поздних стадиях болезни. Однако в серонегативный период в крови больных обнаруживается антиген вируса гепатита С. Для подтверждения диагноза используют метод иммуноблотинга.

Вакцинопрофилактика в стадии разработки.

Для лечения применяют альфа-интерферон.

21.3.5. Вирус гепатита Е (HEV)

HEV относится к семейству калицивирусов. Геном представлен однонитевой плюс-РНК. Вирус лишен суперкапсида, имеет икосаэдральный капсид.

Заболевание протекает легче, чем гепатит В и С и характеризуется умеренным поражением печени. В большинстве случаев прогноз благоприятный, за исключением беременных женщин, у которых заболевание может закончиться летальным исходом.

Для серодиагностики используют иммуноферментный анализ с целью выявления антигена и антител.

Вакцинопрофилактика не разработана.

Лечение симптоматическое.

21.4. ОНКОГЕННЫЕ ВИРУСЫ

21.4.1. История

Идея вирусной этиологии опухолей, зародившаяся в начале XX в. вскоре после открытия вирусов, прошла несколько этапов. К середине столетия было обнаружено значительное число вирусов — возбудителей опухолей человека и животных. Среди них были вирусы доброкачественных опухолей (папилломы человека, папилломы кролика, фибромы и миксомы кролика, контагиозного моллюска человека), а также саркомы и лейкозов кур, вирусы рака молочных желез мышей и рака почек лягушки. Несмотря на очевидные экспериментальные успехи, роль вирусов в этиологии реальных злокачественных опухолей практически игнорировалась научным и особенно медицинским сообществом. Так, открытый американцем П. Раусом вирус саркомы кур либо отказывались признавать вирусом, либо считали, что саркома Рауса не настоящая опухоль. Вирус рака молочных желез мышей, передающийся с молоком, обозначали как «фактор молока». Вирусиндуцированные лейкозы не считали опухолевым заболеванием. Если же вирусная этиология опухоли признавалась, считалось, что это случайность, природный курьез. Такому скептическому отношению способствовала несовершенная техника вирусологических исследований, а также тот непреложный факт, что опухолевые болезни не заразны.

В 1951 г. Л. Гросс открыл вирус лимфоидного лейкоза мышей, положив начало выявлению подобных вирусов, вызывающих лейкозы у различных млекопитающих. В этот период в онковирусологию приходит ряд выдающихся исследователей, известных своими работами по инфекционным вирусам, и много талантливой молодежи. Возникает идея, что все опухолевые заболевания вызываются вирусами, надо только суметь это показать. В 50–60-е годы были открыты вирусы сарком мышей, крыс, кошек, обезьян, вирусы различных лейкозов мышей, кошек, обезьян, крупного рогатого скота. Обнаружение вирусов, высокоонкогенных для лабораторных животных — вируса полиомы мышей и вируса SV40 обезьян, наряду с известным ранее вирусом саркомы Рауса — дало в руки исследователей замечательные модели для изучения вирусного канцерогенеза. Интерес к опухолеродным вирусам значительно возрос, когда стало ясно, что суще-

ствует реальная возможность заражения человека известными опухолеродными вирусами животных. Отечественными исследователями (Л. Зильбер, Г. Свет–Молдавский и сотр.) было показано, что считавшийся ранее видоспецифическим вирус саркомы Рауса способен вызывать опухоли не только у кур, но и у млекопитающих. В полиомиелитной вакцине, изготовлявшейся в культуре клеток почки макаки-резус, был обнаружен опухолеродный вирус SV40, и стало ясно, что миллионы детей получили этот вирус в процессе вакцинации.

Много волнений вызвало обнаружение опухолеродной активности у «обычных» аденовирусов, широко распространенных в популяции человека. Эти истории окончились благополучно (ни SV40, ни аденовирусы не имеют отношения к этиологии естественных опухолей человека и животных), но явились важным стимулом для развития онковирусологических исследований.

Было показано, что генетический материал опухолеродных вирусов, как правило, физически и функционально объединяется (интегрирует) с клеточным геномом. Возникло представление об интегративной форме вирусной инфекции клетки, ранее известной только для лизогенных фагов. Апофеозом развития онковирусологических исследований этого периода явилось открытие эндогенных ретровирусов — вирусов, генетический материал которых является составной частью генома всех клеток организма у всех особей данного вида. Поскольку большинство известных ретровирусов обладают опухолеродными свойствами, стало ясно, что нормальные клетки как бы заминированы вирусным онкогенным фактором, который должен быть первичен по отношению к другим (пусковым) факторам, вызывающим канцерогенез (химические канцерогены, радиация). Это был момент, казалось бы, полного торжества унитарной гипотезы вирусной этиологии опухолей («все опухоли вызываются вирусами»). Несмотря на кажущуюся очевидность, эта идеология была вскоре пересмотрена благодаря дальнейшим успехам онковирусологии.

Следующий этап онковирусологии (70-е–80-е годы) ознаменовался значительным прорывом в понимании механизма вирусного канцерогенеза. В геноме ДНК- и РНК-содержащих вирусов были найдены специальные гены — *онкогены*, белковый продукт которых отвечает за превращение нормальной клетки в опухолевую. Вскоре выяснилось, что онкогены ретровирусов имеют клеточное происхождение: они возникают в результате захвата вирусом регуляторных клеточных генов, которые в составе вирусного генома превращаются в онкогены. Отсюда вытекала возможность превращения нормальных клеточных генов (протоонкогенов) в онкогены в результате спонтанных или индуцированных мутаций без участия вируса. Такие клеточные онкогены, не входящие в состав вирусного генома, были обнаружены в опухолях человека и животных невирусной природы. Было также показано, что эндогенные ретровирусы не содержат в своем геноме онкогены и, как правило, не имеют отношения к развитию опухолей в естественных условиях.

Важным успехом в генетике опухолей явилось также открытие клеточных генов-супрессоров, подавляющих опухолевое перерождение нормальной клетки. Инактивация генов-супрессоров и появление в клетке функционирующего онкогена можно рассматривать как основной механизм превращения нормальной клетки в опухолевую. Опухолеродные вирусы в этом случае должны рассматриваться как частный конкретный фактор внесения в клетку онкогенов и инактивации генов-супрессоров, т.е. одним из возможных этиологических факторов канцерогенеза наряду со спонтанным и индуцированным мутагенезом, вызванным различными канцерогенными факторами, такими как химические канцерогены и радиация. Таким образом, последствия достижений онковирусологии привели к однозначной отмене представления о всеобщей роли вирусов в этиологии опухолевых болезней. Значит ли это, что онковирусология, оказав огромную услугу онкологии и молекулярной генетике рака, потеряла свое значение?

Опухоли могут иметь как вирусную, так и невирусную этиологию. Роль вирусов в этиологии определенных опухолевых заболеваний животных давно уже не вызывает сомнения. Их значение как возбудителей опухолей неодинаково у разных видов животных. Так, у некоторых короткоживущих видов (куры, мыши) большинство опухолей вызывается вирусами. По-видимому, у человека и приматов доминируют опухоли невирусной этиологии. Задачей современной онковирусологии, наряду с продолжением исследований по механизму вирусного канцерогенеза, является установление вирусной этиологии той или иной конкретной опухолевой болезни человека и сельскохозяйственных животных, разработка методов ее специфической диагностики и профилактики, выяснение путей распространения возбудителя в естественных условиях. В 80–90-е годы появились важные данные о роли вирусов в этиологии определенной формы лейкоза человека (Т-клеточный лейкоз взрослых) и при такой распространенной опухолевой патологии, как рак гениталий. Стала ясной роль вирусов гепатита В и С в возникновении рака печени у человека. Получены эффективные вакцины против вируса гепатита В, способные снизить частоту заболеваемости раком печени. Разрабатываются вакцины против опухолевых заболеваний сельскохозяйственных животных. Однако успехи в профилактике вирусиндуцированных опухолевых болезней человека и сельскохозяйственных животных еще невелики и должны являться предметом дальнейших усилий онковирусологии.

21.4.2. Онкогенность вирусов

К онкогенным (опухолеродным) вирусам относятся вирусы, способные вызывать опухоли у животных в естественных или лабораторных условиях. В табл. 21.3 и 21.4 приведены сводные данные об основных группах онкогенных вирусов.

Таблица 21.3

Онкогенные вирусы
(сем. Retroviridae, подсем. Oncovirinae)

Группа вирусов	Представители
Род: Онковирусы типа С	
1. Вирусы лейкоза-саркомы млекопитающих	Вирусы лейкоза-саркомы мышей: - вирус лимфоидного лейкоза Гросса - вирус эритробластоза Раушера - вирус саркомы Молони Вирусы лейкоза-саркомы кошек: - вирус лимфоидного лейкоза - вирус саркомы Снайдера-Тейлена Вирусы лейкоза-саркомы обезьян: - вирус лимфоидного лейкоза гиббонов - вирус саркомы шерстистых обезьян Вирус лимфоидного лейкоза кур
2. Вирусы лейкоза-саркомы птиц	Вирус эритробластоза кур Вирус миелобластоза кур Вирус миелоцитоматоза кур Вирус саркомы Рауса Вирус саркомы Фуджинами кур
3. Вирусы бычьего лейкоза — Т-клеточного лейкоза человека	Вирус бычьего лейкоза Вирус Т-клеточного лейкоза взрослых
Род: Онковирусы типа В	Вирус рака молочных желез мышей
Род: Онковирусы типа D	Нет онкогенных представителей

Большинство семейств ДНК-содержащих вирусов (кроме парво- и ридовирусов) имеют онкогенных представителей. Многочисленные представители подсемейства Oncovirinae семейства Retroviridae также обладают онкогенными свойствами. Вирусы способны вызывать доброкачественные (папилломы, фибромы) и злокачественные (саркомы, раки) опухоли, а также лейкозы. Некоторые вирусы очень специфичны и способны вызвать опухоль только у своего естественного хозяина (например, вирусы папиллом, большинство вирусов лейкозов). Другие вирусы способны вызвать опухоли не только у своего хозяина, но и у других близких или отдаленных видов животных. Например, вирус саркомы Рауса кур способен в эксперименте вызывать опухоли не только у кур, но и у других видов птиц, а также у различных млекопитающих (мышей, хомячков, крыс). Третья группа онкогенных вирусов способна вызывать опухоли у лабораторных животных в эксперименте, но не вызывает опу-

Таблица 21.4

ДНК-содержащие онкогенные вирусы

Классификация	Вирус	Естественный хозяин	Чувствительный организм
Papovaviridae род Polyomavirus	SV40 вирус полиомы JC BK	макака мышь человек человек	хомячок грызуны хомячок хомячок
род Papillomavirus	вирус папилломы животных	кролик, бык, мышь	естественный хозяин
	вирус папилломы человека (~80 генотипов)	человек	человек
сем. Adenoviridae аденовирусы человека:			
подрод А	типы 12, 18, 31	человек	хомячок
подрод В	типы 3,7 , 14, др.	человек	"
аденовирусы обез.	SA7 (c8)	обезьяна	"
аденовирусы быка	BAV-3	бык	"
аденовирусы птиц	CELO	курица	"
сем. Herpesviridae подсем. Gammaherpes-virinae	вирус Эпштейна–Барр	человек	человек
	вирус саркомы капоши	человек	человек
	вирус болезни марека	курица	курица
	вирусы обезьян	обезьяны	обезьяны
	вирус американских кроликов	америк. кролик	америк. кролик
сем. Poxviridae	вирус фибромы Шопа	кролик	кролик
	вирус миксомы	"	"
	вирус Яба	обезьяна	обез., челов.
	танапоксвирус	"	"
	вирус контагиозного моллюска	человек	человек
сем. Hepadna-viridae	вирус гепатита В вирус гепатита лесного сурка вирус гепатита утки	человек лесной сурок пекинская утка	человек лесной сурок пекинская утка

холей у своего естественного хозяина. Так, вирус SV40 обезьян вызывает опухоли у сирийских хомячков в эксперименте, но не у приматов в естественных или в лабораторных условиях. К этой же группе относятся онкогенные аденовирусы человека и животных, которые эффективно вызывают опухоли у сирийских хомячков, но не у собственных природных хозяев.

Опухолеродные вирусы различаются по гистогенезу индуцируемых ими опухолей. Большинство из них отличаются высокой специфичностью и индуцируют опухоли строго определенного гистогенеза. Это в первую очередь относится к вирусам, вызывающим лейкозы и лимфомы. Существуют вирусы, вызывающие только лимфобластозы, только эритробластозы или только миелобластозы. Герпесвирус Эпштейна–Барр человека вызывает лимфому, состоящую из В-лимфоцитов, герпесвирус обезьян саймири вызывает только Т-клеточные лимфомы, так же как и вирус Т-клеточного лейкоза человека. Другие вирусы малоспецифичны в отношении первичных клеток, из которых возникают индуцируемые ими опухоли. Например, вирус саркомы Рауса, а также вирус полиомы мышей вызывают в эксперименте опухоли разного гистогенеза (саркомы, раки, нейроглиомы и др.).

Для своего роста в организме первично трансформированная вирусом клетка должна преодолевать сопротивление его иммуной системы. Наиболее восприимчивы к вирусному канцерогенезу новорожденные животные с незрелой иммунной системой, которым вирус вводится парентерально и в достаточно высокой дозе. Одной из лучших моделей для выявления онкогенности вирусов служат новорожденные сирийские хомячки. Они восприимчивы к полиомавирусам, различным аденовирусам и вирусам сарком ретровирусной природы, но обычно нечувствительны к более специфическим вирусам таким, как вирусы лейкозов герпесвирусной и ретровирусной природы.

Общий механизм возникновения вирусиндуцированной опухоли сводится к следующему:

1) вирион опухолеродного вируса проникает в клетку, его генетический материал взаимодействует с ней без цитоцидного эффекта;

2) нормальная клетка превращается (трансформируется) в опухолевую, способную бесконтрольно размножаться в организме;

3) первично трансформированная клетка размножается и дает начало опухолевому росту, который в случае злокачественной опухоли приводит животное к гибели.

Вирусиндуцированные опухоли могут быть моно- или поликлональными. Если опухоль возникает из одной первично трансформированной клетки, все ее потомки представляют собой один клеточный клон (моноклональная опухоль). Если вирус размножается в опухолевых клетках и вовлекает в процесс новые клетки, образуется поликлональная опухоль, состоящая из большого числа клеточных клонов.

21.4.3. Трансформирующая активность вирусов в культуре клеток

Некоторые вирусы способны вызывать неопластическую трансформацию клеток *in vitro*. Неопластическую трансформацию нормальной клетки в опухолевую можно наблюдать не только in vivo по появлению опухоли, но и *in vitro* в культуре клеток. Трансформирующий эффект зависит от вида вируса, вида клеток и условий культивирования.

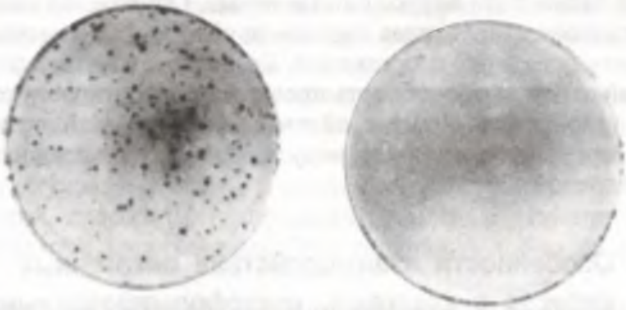
Трансфорированные клетки отличаются от нормальных по своему социальному поведению и биохимическим свойствам. «Социальное» поведение клеток — это их взаимоотношения с субстратом, на котором они растут (стекло, пластик), и между собой. Нормальные клетки начинают делиться только после прикрепления к субстрату и распластывания на нем. Трансформировнные клетки обычно не распластываются на субстрате и соединяются с ним лишь отростками. В отличие от нормальных клеток они способны делиться без всякого контакта с твердым субстратом, например в полужидком агарозном геле. У трансформированных клеток ослаблена не только связь с субстратом, но и межклеточные контакты. Нормальные клетки, придя в контакт с соседями, останавливают свое движение и деление. Трансформированные клетки продолжают двигаться и делиться, формируя многослойные очаги с хаотическим, неориентированным расположением клеток. Морфология трансформированных клеток обычно отличается от морфологии соседних нормальных клеток. В результате многослойные очаги трансформированных клеток четко видны на фоне роста нормальных клеток (рис. 21.19).

Особенности «социального» поведения трансформированных клеток связаны с нарушением цитоскелета, а также с изменением поверхности.

Трансформированные клетки продуцируют пептидные факторы роста и поэтому уменьшают потребность в сыворотке для своего роста. Способность клеток продуцировать факторы роста, стимулирующие их же собственное размножение, называется аутокринной регуляцией клеточного деления.

В трансформированных клетках усиливается активный транспорт сахаров, анаэробный гликолиз, изменяется состав поверхностных гликопротеидов и липидов; клетки приобретают повышенную агглютинабельность фитогемагглютининами.

Важнейшим свойством трансформированных клеток является их бессмертие (иммортализация). Нормальные клетки способны лишь к ограниченному числу делений, характерному для данного вида (предел Хейфлика). Для клеток человека этот предел составляет около 50 делений, после чего они прекращают делиться и погибают. Трансформированные клетки способны делиться неограниченно долго. Без этого свойства они не могли бы формировать опухоль. Иногда трансформация выражается в приобретении клетками способности к неограниченному росту без изменения их морфологии и «социального» поведения. Такие клетки называют минимально трансформированными. Обычно минимальная трансформация вызывается не вирусами, а возникает спонтанно. Минимально трансформированные клетки обладают повышенной способностью к дополнительному трансформирующему действию



А Б

Рис. 21.19. Фокусы трансформации в культуре перевиваемых клеток мыши, вызванные вирусом саркомы Молони:
А — зараженная, Б — контрольная культура клеток (2 недели после заражения)

вирусов, образуя характерные очаги роста (фокусы) трансформированных клеток.

При введении в организм сингенных животных трансформированные клетки, как правило, способны размножаться и образовывать опухоли на месте введения. Трансформация in vitro не всегда придает клеткам полный комплекс свойств, необходимый для роста in vivo. Обычно отсутствие таких свойств можно преодолеть, используя большую дозу клеток, животных с повышенной восприимчивостью к опухолевому росту (голые мыши, новорожденные животные, животные, обработанные иммунодепресантами) или вводя клетки в так называемые иммунопривилегированные места (мозг, защечный мешок хомячка). В большинстве случаев трансформированные in vitro клетки не проявляют такие признаки злокачественности как инвазивный рост и метастазирование.

Вирусы, способные вызывать неопластическую трансформацию клеток in vitro, далеко не всегда способны индуцировать опухоли. Так, большинство изученных аденовирусов способны трансформировать фибробласты в культуре клеток. В то же время лишь немногие из них вызывают опухоли при введении новорожденным сирийским хомячкам. Причина такого расхождения сейчас понятна: клетки, трансформированные неонкогенными аденовирусами, отличаются высокой иммуногенностью и способны начинать опухолевый рост только после введения сингенным животным в очень большой дозе (10^6 и более клеток на животное). В свою очередь, не удается наблюдать трансформацию клеток в культуре некоторыми заведомо онкогенными вирусами. Так, например, вирусы лимфоидных лейкозов животных обычно не трансформируют лимфоциты в культуре клеток.

Хотя понятия «трансформированная» и «опухолевая» клетки не строго идентичны, ключевой механизм трансформирующей и опухо-

леродной активности вируса один и тот же. Опухолевая клетка — это клетка, трансформированная вирусом in vivo, стойко изменившая свое социальное поведение в организме. Ее потомство проходит соответствующий отбор на способность преодолевать противоопухолевую защиту и приобретать новые свойства (например, метастазирование), которые могут не зависеть от вируса, вызвавшего появление исходной опухолевой клетки.

21.4.4. Особенности взаимодействия онкогенных вирусов с клетками, трансформированными ими in vitro или in vivo

В клетках, подвергающихся вирусной трансформации, инфекционный процесс **всегда** носит нецитоцидный характер. Это естественно, так как трансформированная клетка должна оставаться жизнеспособной. Если онкогенный вирус по своей природе цитоциден (паповавирусы, аденовирусы, герпесвирусы), инфекция клетки должна носить абортивный характер без образования вирионов. Нецитоцидные онкогенные вирусы (ретровирусы, опухолеродные поксвирусы) могут полностью созревать в трансформируемых ими клетках.

Клетки, трансформированные вирусом, всегда содержат его функционирующий генетический материал. В таких клетках функционирует, по крайней мере, часть вирусных генов, т.е. эти гены транскрибируются (при этом образуется вирусспецифическая иРНК) и транслируются (при этом образуются вирусспецифические белки). Существуют разные уровни выражения вирусного генетического материала в трансформированных (опухолевых) клетках.

1. Вирусный геном полностью экспрессирован. При этом все или большинство трансформированных клеток продуцируют инфекционный вирус. Эта ситуация характерна для ретровирусных и поксвирусных опухолей, возникающих у естественных хозяев этих вирусов в природных условиях или в эксперименте. Так, при вирусиндуцированных лимфоидных лейкозах или саркоме Рауса кур опухолевые клетки продуцируют инфекционный вирус.

2. Вирусный геном экспрессирован частично, трансформированные клетки не продуцируют инфекционный вирус и в них имеет место абортивная инфекция. Эта ситуация очень типична для вирусного канцерогенеза, индуцированного папова-, адено- и герпесвирусами, а также ретровирусами у неприродных хозяев. В отдельных клетках может происходить экспрессия всего вирусного генома, и такие клетки продуцируют полный вирус. Такое явление носит название индукции вируса, которая подобна индукции лизогенного бактериофага.

Индукция может носить спонтанный характер или же возникать при определенных воздействиях, например, при слиянии опухолевых клеток с нормальными, способными поддерживать репродукцию инфекционного вируса. Так, клетки некоторых крысиных опухолей, вызванных вирусом саркомы Рауса и не содержащих инфекционного вируса, начинают продуцировать последний после совместного культивирования опухолевых клеток с нормальными куриными фибробластами. Клетки, способные продуцировать вирус в результате индукции, называются вирогенными. Это явление подобно лизогении у бактерий.

3. Полная экспрессия вирусного генома не происходит ни при каких условиях (невирогенные клетки). В клетках либо имеет место частичная экспрессия полного вирусного генома, либо клетки содержат лишь часть последнего (это характерно, например, для аденовирусного канцерогенеза). О присутствии вирусного генетического материала и о его экспрессии можно судить только с помощью серологических (обнаружение вирусспецифических антигенов) или молекулярно-биологических методов исследования. С помощью последних (молекулярная гибридизация, полимеразная цепная реакция) можно выявлять непосредственно полный или дефектный вирусный геном или продукты его транскрипции (*и*РНК).

Таким образом, по способности продуцировать инфекционный вирус трансформированные (опухолевые) клетки могут быть вируспродуцирующими, вирогенными или невирогенными.

Генетический материал вируса должен быть стабильно закреплен в трансформированных клетках. Клетка, зараженная онкогенным вирусом, может стойко трансформироваться при условии, что вирусный геном будет постоянно сохраняться в ней. Существует три способа стабильного закрепления (персистенции) вирусного генома в клетке:

1) физическая интеграция вирусного и клеточного геномов, при которой вирусный геном в результате рекомбинации внедряется в геном клетки и становится его частью;

2) вирусный геном существует в форме свободного генетического элемента, (плазмиды), реплицирующегося в клеточном ядре в количестве десятков и сотен копий;

3) нецитоцидный опухолеродный вирус размножается в трансформируемых клетках, созревает, и инфекционные вирионы переходят в дочерние клетки, поддерживая стабильную продуктивную инфекцию. Возможно также сочетание этих механизмов.

Физическая интеграция вирусного генома (или ДНК-провируса в случае ретровирусов) с клеточным геномом характерна для папова-, адено-, ретровирусного и, по-видимому, герпесвирусного канцерогенеза. При репликации клеточной ДНК и делении клеток такой интег-

рированный вирусный геном попадает во все дочерние клетки вместе с клеточным геномом.

Плазмидный механизм характерен для некоторых герпес- и папилломавирусов. Большое число копий свободного вирусного генома в клеточных ядрах, по-видимому, сочетается с интеграцией немногих копий с клеточным геномом.

Третий механизм характерен для опухолеродных поксвирусов, например для вируса фибромы Шопа.

Геном большинства известных онкогенных вирусов содержит специальные гены — онкогены, которые должны экспрессироваться в трансформированных клетках. Открытие онкогенов, экспрессия которых необходима (но не всегда достаточна) для неопластической трансформации клетки явилось крупнейшим достижением онковирусологии. Для выявления этих генов были использованы различные методические подходы. Первый вирусный онкоген был открыт Г. Мартином в геноме вируса саркомы Рауса в 1970 г.

Онкогены были найдены и у многих опухолеродных вирусов, способных трансформировать клетки в культуре — у папова-, адено- и ретровирусов (более подробная информация об этих онкогенах будет представлена в соответствующих разделах). Идентифицированные вирусные онкогены были клонированы в плазмидах современными методами генетической инженерии, определена их нуклеотидная последовательность, выявлены и охарактеризованы кодируемые ими белковые продукты.

Сейчас известно свыше 30 вирусных онкогенов. Их продукты разнообразны как по молекулярной массе (м.м.), так и по функции. Среди них имеются тирозиновые протеинкиназы (ферменты, фосфорилирующие клеточные белки по гидроксилу тирозина), белки, связывающие гуанозинтрифосфат, факторы роста, факторы трансляции и белки с неизвестными функциями.

Доказано, что онкогены ретровирусов происходят из клеточных генов (протоонкогенов) в результате их случайного включения в вирусный геном; они не нужны этим вирусам для их существования (подробнее см. *Ретровирусы*). Онкогены ДНК-содержащих вирусов также, по-видимому, происходят из клеточных генов, имеющих отношение к регуляции клеточного деления и превратившихся в настоящие вирусные гены в процессе эволюции.

По трансформирующему эффекту на клетки вирусные онкогены несколько условно можно разделить на три группы:

1) иммортализующие онкогены, которые превращают нормальную клетку в минимально трансформированную, способную к неограниченному размножению без изменения ее «социального» поведения;

2) трансформирующие гены, которые не делают клетку бессмертной, но меняют ее «социальное» поведение;

3) онкогены с комбинированным действием, способные сделать клетку полностью трансформированной. Для того чтобы полностью трансформировать нормальные клетки в культуре и получить характерные фокусы трансформации необходимо вести в них либо комбинацию онкогенов первого и второго типов, либо онкоген третьего типа. Если ввести в фибробласты хомячка по отдельности онкогены v-myc и v-ras, фокусы трансформации не возникают. Если ввести эти онкогены вместе, появляются характерные фокусы трансформированных клеток, подобные показанным на рис. 21.19. Если использовать для трансформации не культуры первичных клеток, а минимально трансформированные линии клеток, полный трансформирующий эффект может быть достигнут только за счет одного онкогена второго типа, так как в минимально трансформированных клетках уже функционирует какой-то, обычно неизвестный клеточный онкоген первого типа.

Продукты онкогенов могут отличаться по степени тканевой и видовой специфичности. Так, некоторые вирусы способны трансформировать клетки крови, вызывая определенные типы лейкозов, но не трансформируют фибробласты. Продукты онкогенов паповавирусов и вируса саркомы Рауса обладают меньшей специфичностью.

Среди клеточных генов, играющих особую роль в канцерогенезе, включая вирусный, необходимо отметить так называемые гены-супрессоры. Это гены, продукты которых участвуют в негативном контроле клеточного деления и тем самым препятствуют опухолевой трансформации клеток. Сейчас известно около десятка таких генов. Если они нормально функционируют в клетке, тогда последняя очень устойчива к различным факторам, вызывающим опухолевую трансформацию. В большинстве спонтанных опухолей человека гены-супрессоры либо отсутствуют в результате делеции соответствующей области генома, либо не функционируют из-за повреждения их регуляторных элементов, либо в результате мутации экспрессируют функционально неполноценный белок. Обычно в диплоидном геноме опухолевой клетки комбинируются разные типы повреждений геновсупрессоров (например, делеция соответствующей области генома в одной хромосоме и мутация гена-супрессора в другой). При врожденной делеции Rb-гена резко возрастает частота возникновения ретинобластомы и некоторых других опухолей.

Как же онкогенные вирусы справляются с генами-супрессорами? Было показано, что продукты онкогенов папова-, адено- и герпесвирусов могут выключать гены-супрессоры не генетическими (делеции, мутации), а эпигенетическими механизмами.

Молекулярные механизмы превращения нормальной клетки в опухолевую под влиянием продуктов онкогенов еще недостаточно изучены.

Возможен вирусный канцерогенез без участия вирусных онкогенов. Некоторые опухолеродные вирусы, закономерно вызывающие опухоли в эксперименте и в естественных условиях (например, вирусы лимфоидного лейкоза кур, мышей, кошек, коров, обезьян, человека) не содержат в геноме каких либо генов, которые можно идентифицировать как онкогены. Механизм их онкогенного действия обсуждается в разделе Ретровирусы.

Трансформированные вирусом клетки обычно содержат вирусспецифические белки и антигены. Если в трансформированных клетках происходит экспрессия полного вирусного генома, в них будут обнаруживаться все структурные (вирионные) и неструктурные белки и вирионы данного онкогенного вируса. Эта ситуация типична для онкогенных покс- и ретровирусов, способных вызывать продуктивную инфекцию клетки без ее гибели. Для остальных вирусов характерно образование лишь части вирусспецифических белков без формирования инфекционного вируса, т.е. абортивная инфекция, совместимая с жизнеспособностью клетки.

21.4.5. Онкогенные вирусы и онкогенные инфекции

Под онкогенными инфекциями понимают инфекции, закономерно ведущие к появлению опухолей. В практическом плане важно, что, проводя специфическую и неспецифическую профилактику онкогенных инфекций можно повлиять на онкологическую заболеваемость человека и сельскохозяйственных животных. Следует отметить, что в естественных условиях инфекции, вызываемые онкогенными вирусами, не всегда должны расцениваться как онкогенные инфекции. Так, аденовирусы человека 12, 18, 31 типов являются высокоонкогенными агентами в экспериментах на новорожденных хомяках. Они часто заражают людей. Однако аденовирусная инфекция человека (и животных) не ведет к развитию опухолей и не может считаться онкогенной инфекцией. В случае аденовирусов онкогенной является лишь экспериментальная инфекция новорожденных хомяков. В свою очередь, инфекция некоторыми неонкогенными вирусами может вести к патологии, закономерно способствующей развитию опухолей. Например, неонкогенный вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), вызывая СПИД, создает условия для возникновения злокачественных опухолей.

В 80–90 годах накопились данные об онкогенных инфекциях человека, ведущих к возникновению не только доброкачественных, но и злокачественных опухолей:

1) папилломавирусные инфекции, ведущие к развитию доброкачественных опухолей кожи и слизистых (папилломы, кондиломы), а

также злокачественных опухолей (раков) аногенитальной области, кожи и других органов;

2) инфекция, вызываемая вирусом гепатита В, ведущая к хроническим гепатитам и являющаяся главной причиной рака печени;

3)вирус гепатита С, который не может считаться окогенным, вызывает инфекцию, ведущую к хроническому гепатиту и гепатоме;

4) вирус Т-клеточного лейкоза взрослых вызывает инфекцию, иногда заканчивающуюся развитием лейкоза;

5) вирус иммунодефицита человека вызывает смертельный синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД), на фоне которого развиваются злокачественные опухоли (в первую очередь, лейкозы и саркома Капоши);

6) герпесвирус Эпштейна–Барр вызывает инфекцию, распространенную во всем мире и ведущую у части зараженных людей к неопухолевому заболеванию — инфекционному мононуклеозу; однако в определенных районах Африки и Юго-Восточной Азии эта инфекция способствует развитию злокачественной лимфомы Беркитта и назофаренгиального рака, и может рассматриваться как онкогенная инфекция;

7) герпесвирус саркомы Капоши вызывает инфекцию, которая у людей с подавленным клеточным иммунитетом может вести к развитию множественных опухолевых узлов в коже;

8) вирус контагиозного моллюска вызывает инфекцию, ведущую к появлению специфических доброкачественных кожных опухолей.

По основным закономерностям распространения онкогенные инфекции принципиально не отличаются от обычных неонкогенных инфекций. Подходы к их диагностике и профилактике также не имеют какой-либо «онкологической» специфики. Необходимо отметить, что основным источником инфекции при онкогенных инфекциях являются здоровые вирусоносители, а не больные, страдающие опухолевыми заболеваниями в результате онкогенной инфекции. За редким исключением, возникшие опухоли не содержат вирус в инфекционной форме, способный заразить здоровых людей в результате контакта с онкологическим больным и передать им опухолевое заболевание. Поэтому существование онкогенных инфекций не отменяет формулу «больные злокачественными опухолями не заразны».

21.4.6. Паповавирусы (Papovaviridae)

В семейство входят два рода: 1) полиомавирусы (Polyomavirus) (вирус полиомы мышей, вакуолизирующий вирус обезьян SV40, вирусы, выделенные от человека — ВК и JC и некоторые другие) — диаметр вириона около 45 нм; 2) папилломавирусы (Papillomavirus)

(вирусы папиллом человека, кролика, быка и других животных) с диаметром вириона около 55 нм

Вирионы паповавирусов построены только из белка и ДНК. Капсид вириона состоит из двух или трех белков, внутри вириона обнаруживаются клеточные гистоны, связанные с вирусной ДНК и образующие минихромосому. Такие минихромосомы подобны по структуре клеточным хромосомам и характерны только для паповавирусов, но не для других ДНК-содержащих вирусов. Вирионы паповавирусов устойчивы к нагреванию при 50^{0}С.

Полиомавирусы. Для полиомавирусов характерна способность вызывать разные типы инфекции клетки:

1) острая продуктивная инфекция клетки, заканчивающаяся образованием инфекционных вирионов (около 10000 вирионов/клетка) и гибелью клетки;

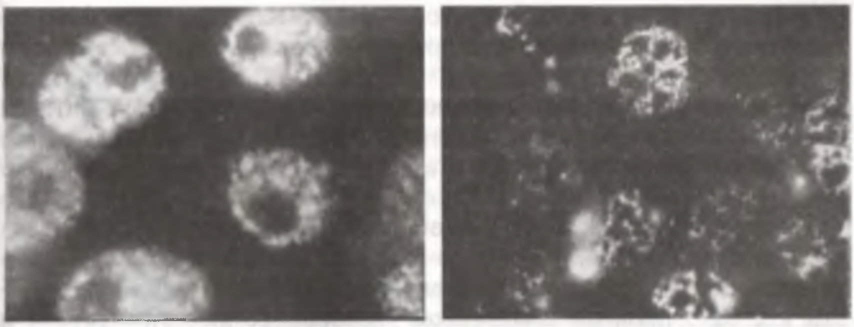
2) острая абортивная инфекция, при которой не происходит репликации вирусной ДНК, образуются только ранние неструктурные белки, клетка не гибнет и освобождается от вирусного генома;

3) хроническая абортивная инфекция, при которой вирусная ДНК закрепляется в клетке путем физической интеграции с клеточным геномом, экспрессируются только «ранние» гены вируса, значительная часть таких клеток подвергается неопластической трансформации.

Вирусы SV40, JC, BK хорощо размножаются в культуре клеток почки зеленой мартышки, вызывая цитопатический эффект. SV40 вызывает характерную вакуолизацию цитоплазмы (отсюда «вакуолизирующий» вирус). Вирус полиомы размножается в культуре клеток мыши. В чувствительных клеточных культурах эти вирусы образуют бляшки под агаровым покрытием, что используется для их титрования. Все полиомавирусы четко различаются между собой в реакции нейтрализации.

В культуре клеток хомяка, крысы, быка и многих других животных полиомавирусы не размножаются, но вызывают в части клеток абортивную инфекцию, которая может завершиться неопластической трансформацией.

Вирус полиомы в экспериментальных условиях вызывает разнообразные опухоли (саркомы, аденокарциномы, фибромы, эндотелиомы и др.) у мышей, хомяков, крыс, морских свинок, кроликов, но не у приматов. SV40, JC,BK вызывают саркомы у сирийских хомячков на месте введения. Обязательным условием опухолеобразования является парентеральный путь введения, высокая доза вируса (>10^4 БОЕ) и иммунологическая незрелость животных. Наиболее чувствительны к опухолеродному действию новорожденные сирийские хомячки; их чувствительность снижается по дням и практически исчезает к 2-недельному возрасту. Если заразить новорожденных хомяков большой дозой SV40, опухоли появятся у всех животных через 4–9 мес. Интересно, что если таким зараженным животным повторно ввести большую дозу того же вируса в возрасте 1–2 мес., опухоли не развиваются. Обе инокуляции вируса вызывают в зараженных клетках образование специфических трансплантационных опухолевых антигенов



А Б

Рис. 21.20. Т-антиген в ядрах зараженных и трансформированных вирусом SV40 клеток:

А — клетки почки зеленой мартышки, зараженной вирусом (продуктивная инфекция, 72 часа после заражения); Б — клетки почки сирийского хомячка, трансформированных вирусом. Иммунофлюоресценция с использованием сыворотки хомячков-носителей опухолей, вызванных вирусом SV40

(СТОА), но у новорожденных животных иммунологическая реакция на этот антиген ослаблена, а у более взрослых животных вирус вызывает специфический противоопухолевый иммунитет и останавливает развитие опухолевого роста на ранней стадии канцерогенеза. Помимо СТОА, локализованных в клеточной мембране, в опухолевых, зараженных и трансформированных in vitro клетках выявляются Т-антигены (Tumor-опухоль), локализованные в ядре (рис. 21.20).

Названные выше условия опухолеродного действия полиомавирусов объясняют, почему эти вирусы, высокоонкогенные в эксперименте, не играют никакой роли в естественном канцерогенезе у своих хозяев (мышей, макак резус), среди которых они широко рспространены. Широкое применение полиомиелитных вакцин, изготовлявшихся в 50-е годы в культуре почки макаки-резус и содержавших инфекционный вирус SV40 (в то время неизвестный), привело к массовому инфицированию детей, в том числе новорожденных, но вирус в человеческой популяции не закрепился и, повидимому не вызвал каких-либо вредных последствий у привитых. С начала 60-х годов вакцина изготовляется в клетках почки зеленой мартышки и полностью свободна от SV40.

При продуктивной инфекции геном полиомавируса, проникает в ядро, где происходит его транскрипция. До репликации ДНК транскрибируется около половины генома («ранние» гены). Синтез «ранних» белков происходит в цитоплазме, после чего эти белки возвращаются в ядро и связываются с вирусной ДНК. В ядре же начинается репликация вирусной ДНК, осуществляемая клеточной репликационной машиной. После начала репликации происходит транскрипция «поздних» генов вируса. «Поздние» белки синтезируются в цитоплазме и затем возвращаются в ядро, где происходит сборка вирионов. Вирионы освобождаются из ядра, а затем из клеток при их разрушении.

«Ранние» гены полиомавирусов являются их онкогенами. У вируса полиомы обнаруживают три «ранних» белка — малый, средний и большой Т-антигены; у вируса SV40 два белка — малый и большой Т-антигены. За трансформацию клеток отвечают средний Т-антиген вируса полиомы и большой Т-антиген SV40, способные связываться с вирусной и клеточной ДНК и стимулировать их репликацию. По антигенным свойствам Т-антигены различных полиомавирусов четко различаются между собой. Все они имеют разные СТОА. Природа последних недостаточно ясна. По-видимому, они являются протеолитическими фрагментами Т-антигена, представленными на поверхности клеток с главным комплексом гистосовместимости I класса и способными индуцировать специфический Т-клеточный иммунитет против клеток, содержащих СТОА той же специфичности.

Папилломавирусы. Если полиомавирусы представляют большой интерес как замечательные модели для изучения молекулярной биологии вирусов и особенно вирусного канцерогенеза, папилломавирусы крайне важны как реальная причина доброкачественных и злокачественных опухолей человека. Вирусы папиллом встречаются у многих видов животных (кролика, быка, лошади, оленя и др.). В отличие от полиомавирусов папилломавирусы не удается культивировать в клеточных культурах. За редким исключением, папилломавирусы не трансформируют клетки в культуре и вызывают опухоли только у своих естественных хозяев. В тех случаях, когда наблюдается трансформация клеток, она обычно выражается в их иммортализации, которая более эффективно вызывает вирусная ДНК, чем вирионы.

Полные вирионы папилломавирусов можно получить из папиллом. При заражении клеток кожи или слизистой папилломавирусом происходит абортивная инфекция с экспрессией только «ранних» генов. Папилломавирусная ДНК интегрирована с клеточным геномом или находится в плазмидной форме. Эпителиальные клетки делятся, образуя доброкачественные опухолевые разрастания. После ряда делений клетки достигают конечной дифференцировки, перестают делиться, в них накапливается кератин. В таких клетках происходит созревание инфекционного вируса, и его можно получить в большом количестве из экстракта соответствующих опухолей. Кольцевая папилломавирусная ДНК выделяется из вирионов или из опухолевой ткани. Для сравнения папилломавирусов используют серологические методы.

В различных опухолях человека было выявлено около 80 папилломавирусов, различающихся по структуре их ДНК. Такие варианты называются генотипами. Разные генотипы вирусов оказались связанными с опухолями разной локализации. ДНК нескольких генотипов папилломавирусов (особенно типов 16 и 18) регулярно обнаруживаются при

различных видах аногенитального рака. При раке шейки матки ДНК нескольких генотипов вируса встречается в более чем 95% случаев. Было показано, что при культивировании клеток таких опухолей in vitro, они проявляют трансформированный фенотип, который исчезает, если клетки теряют вирусный генетический материал. ***Выдающаяся этиологическая роль папилломавирусов при раке шейке матки, других аногенитальных раках и, в меньшей степени, при злокачественных опухолях иной локализации сейчас не вызывает сомнений.*** Полагают, что около 10% (!) злокачественных опухолей человека имеют папилломавирусную этиологию. Папилломавирусы, ассоциированные со злокачественными опухолями, называются вирусами «высокого риска». Если в папилломе аногенитальной области обнаруживают папилломавирусную ДНК типа 16, 18 и некоторых других, вероятность перерождения такой папилломы в раковую опухоль намного выше, чем папилломы содержащей папилломавирусы «низкого риска».

70% папилломавирусного генома занимают «ранние» (E) гены, экспрессирующиеся до начала репликации вирусной ДНК. Установлено, что два ранних гена E6 и E7 являются папилломавирусными онкогенами. Степень «злокачественности» папилломавирусов зависит от свойств этих белков. Так, у вирусов «высокого риска» белок E6 связывается с супрессорным белком p53, а белок E7 с другим супрессорным белком Rb гораздо прочнее, чем соответствующие белки вирусов «низкого риска».

Эпидемиология папилломавирусных инфекций изучена недостаточно. По-видимому, вирусы передаются контактным путем при соприкосновении инфицированных тканей с поврежденной кожей или слизистой незараженного человека. Обычно инфекция протекает бессимптомно. Через несколько лет после заражения у части людей могут появиться доброкачественные (интраэпителиальные) опухоли, которые могут озлокачествляться и приобретать способность к инвазивному росту и метастазированию. *Аногенитальные папилломавирусы передаются при половом контакте; степень инфицированности и, соответственно, частота папилломавирусных опухолей, в том числе вероятность возникновения рака шейки матки кореллирует с частотой смены половых партнеров.* Заражение обычно происходит вскоре после начала половой жизни обычно в возрасте 16–25 лет. Между 25 и 35 годами появляются интраэпителиальные поражения. Между 55 и 65 годами резко повышается частота карцином in situ и полностью злокачественных опухолей. Цепочка «инфицирование — интраэпителиальные доброкачественные изменения — карцинома in situ — рак» занимает обычно десятки лет.

Молекулярная идентификация папилломавирусов в доброкачественных опухолях представляет большой интерес ввиду своего прогностического значения. Она, однако, еще мало используется в прак-

тической медицине, особенно в нашей стране. Мало сделано также в области специфической профилактики папилломавирусных инфекций. Каких-либо вакцин против них не существует. Можно надеяться, что подходы к созданию таких вакцин будут найдены на основе методов генетической инженерии. Делаются попытки разработать генно-инженерные рекомбинантные вакцины против онкогенных белков Е6 и Е7 и использовать их для иммунотерапии опухолей, которые они экспрессируют.

21.4.7. Онкогенные аденовирусы

Аденовирусы (*см. главу 21.2.1*) широко распространены среди людей и животных, являясь возбудителями респираторных, кишечных и глазных заболеваний. Поэтому громкой сенсацией стало открытие онкогенности некоторых аденовирусов человека в 1962 г. Д. Трентиным в опытах на хомячках. По онкогенности для этих животных аденовирусы человека можно разделить на три группы: 1) высокоонкогенные аденовирусы (группа А) — типы 12, 18, 31; 2) низкоонкогенные аденовирусы (группы В и D) — типы 3,17, 8, 11 и др.; 3) неонкогенные аденовирусы (группы С и Е) — типы 1, 2, 4, 5, 6. Среди аденовирусов животных (млекопитающих и птиц) также описаны высоко-, низко- и неонкогенные варианты. Условия проявления онкогенности аденовирусов в основном те же, что и для полиомавирусов.

Есть основания считать, что аденовирусы, подобно полиомавирусам, не играют существенной роли в этиологии опухолей у своих естественных хозяев, в том числе у человека: попытки обнаружить аденовирусные ДНК и Т-антигены в каких-либо опухолях человека неизменно дают отрицательные результаты.

Практически все изученные аденовирусы, в том числе неонкогенные, обладают способностью вызывать неопластическую трансформацию клеток в культуре. Так, высокоонкогенные аденовирус человека, тип 12, и аденовирус обезьян SA7(C8) трансформируют эмбриональные фибробласты и клетки почки хомяка, крысы и мыши. Неонкогенные аденовирусы человека, типы 1, 2, 5, 6, 9, 10, 13 и многие другие способны трансформировать клетки почки и эмбриональные фибробласты крыс и хомяков. Клетки, трансформированные аденовирусами in vitro, становятся перевиваемыми и растут в виде опухолей на месте введения сингенным животным.

В трансформированных аденовирусами клетках всегда присутствует вирусная ДНК в интегрированном состоянии.

Хотя аденовирусы не являются реальной причиной опухолей человека в естественных условиях, изучение экспериментального аденовирусного канцерогенеза вносит существенный вклад в понимание механизма неопластической трансформации клетки.

21.4.8. Онкогенные герпесвирусы

Семейство герпесвирусов (см. главу 21.2.3) имеет целый ряд представителей с предполагаемой или доказанной онкогенностью. В этом отношении наиболее важны γ-герпесвирусы (вирусы, ассоциированные с лимфоцитами), которые являются реальными возбудителями опухолевых заболеваний (обычно лимфом) человека и животных. Способность вызывать опухоли в контролируемом эксперименте и в естественных условиях доказана для следующих γ-герпесвирусов: 1) вирус Эпштейна–Барр (ВЕБ) человека и подобного ему вируса павианов; 2) вирус саркомы Капоши человека; 3) вирус болезни Марека кур; 4) герпесвирусы беличьих (саймири) и паукообразных (этелес) обезьян; 5) герпесвирус американских кроликов; 7) герпесвирус лягушек.

ВЭБ широко распространен по всему миру и является возбудителем инфекционного мононуклеоза. Этот вирус способен in vitro и in vivo трансформировать В-лимфоциты, которые приобретают способность к неограниченному росту в культуре. Интересно, что клетки (моноциты, лимфоциты) крови людей, перенесших инфекционный мононуклеоз хорошо растут в культуре как перевиваемые линии в отличие от аналогичных клеток людей, не болевших этой болезнью. Этот факт позволяет рассматривать инфекционный мононуклеоз как доброкачественное опухолевое заболевание.

Показано, что ВЭБ тесно ассоциирован со злокачественной лимфомой Беркитта, часто встречающейся среди местного населения в определенных районах Восточной и Центральной Африки (так называемый лимфомный пояс), а также с назофарингеальным раком у китайцев в Юго-Восточной Азии. Получено много клеточных линий из опухолевой ткани таких больных. Эти клетки всегда содержат признаки ВЭБ-инфекции. В ядрах клеток выявляются множественные копии полноразмерной кольцевой ДНК ВЭБ, находящейся в плазмидной форме. Единичные копии генома ВЭБ могут быть интегрированы с клеточным геномом. Геном ВЭБ транскрибируется в опухолевых клетках, и имеет место синтез вирусспецифических белков. Лишь в некоторых клеточных линиях в небольшом проценте клеток происходит продукция полных инфекционных вирионов. В большинстве же клеток инфекционный процесс носит абортивный характер. Механизм спонтанного перехода абортивной инфекции в продуктивную не известен. Вируспродуцирующие клетки погибают, но в клеточной популяции таких клеточных линий всегда имеется небольшой процент (1–5%) клеток, продуцирующих вирус.

В клетках лимфомы Беркитта обнаруживается ряд вирусспецифических антигенов: 1) EBNA (Epstein–Barr nuclear antigen) — выявляется в ядрах, состоит из нескольких белков, главный из которых име-

ет мол. массу 78 К и связывается с хромосомами; 2) «ранние» антигены, неструктурные вирусспесифические белки, выявляемые в цитоплзме клеток; 3) вирусные капсидные антигены; 4) вирусные мембранные (оболочечные) антигены.

В механизме возникновения лимфомы Беркитта важная роль принадлежит сочетанию ВЭБ-инфекции и активации клеточного протоонкогена c-myc. Клетки лимфомы Беркитта обычно содержат характерную хромосомную перестройку — участок хромосомы 8, содержащий ген c-myc, перемещается в хромосому 2, 14 или 22 в область иммуноглобулиновых генов. При этом экспрессия гена c-myc становится нерегулируемой, и он превращается в онкоген. Роль ВЭБ в возникновении таких хромосомных транслокаций неясна, но есть все основания считать, что оба события — ВЭБ-инфекция и активация гена c-myc необходимы для приобретения В-лимфоцитом опухолевого потенциала.

Каковы же доказательства роли ВЭБ в этиологии лимфомы Беркитта? ВЭБ способен трансформировать В-лимфоциты и вызывать В-клеточные лимфомы у обезьян мармозетов в эксперименте. У больных лимфомой Беркитта всегда наблюдается высокий титр антител к ВЭБ и его «опухолевым» антигенам. В каждой клетке лимфомы всегда выявляются признаки присутствия генетического материала ВЭБ (вирусные ДНК и РНК, вирусные белки и антигены).

Полагают, что в развитии лимфомы Беркитта также играет роль иммуносупрессивное действие малярии и белкового голодания — факторов, характерных для «лимфомного пояса» и, возможно, какие-то генетические факторы: лимфомой болеет только местное черное население; назофарингеальным раком болеют в основном китайцы.

ВЭБ не удается размножать в клеточных культурах под контролем цитопатического эффекта, как большинство других герпесвирусов. Источником инфекционного вируса служат отдельные линии лимфобластоидных клеток, которые продуцируют инфекционный вирус за счет продуктивной инфекции немногих клеток в популяции, которая происходит спонтанно или после облучения рентгеновской или ультрафиолетовой радиацией. Вирус выявляют по способности трансформировать В-лимфоциты из пуповинной крови новорожденных, по образованию вирусспецифических антигенов в зараженных клетках, а также с помощью молекулярных методов исследования (полимеразная цепная реакция).

Вакцины против ВЭБ-инфекции, которая была бы полезна для профилактики инфекционного мононуклеоза и онкологических заболеваний, ассоциированных с ВЭБ, пока не существует, хотя работы по ее созданию ведутся с использованием генно-инженерных методов.

Показано, что так называемая идиопатическая пигментная саркома кожи человека (саркома Капоши) вызывается гамма-герпесвиру-

сом, обозначенным как вирус саркомы Капоши, или герпес вирус типа VIII. Это заболевание обычно развивается на фоне ослабления клеточного иммунитета, например у больных СПИД.

α- и β-герпесвирусы не обладают онкогенностью в экспериментах на животных. Их роль в естественном канцерогенезе не установлена. Предполагалось возможное участие вируса простого герпеса типа 2 в возникновении рака шейки матки, однако доказательства носят косвенный характер и не убедительны.

21.4.9. Онкогенные поксвирусы

Поксвирусы не вызывают злокачественных опухолей ни в естественных условиях, ни в эксперименте, но ряд поксвирусов способны вызывать доброкачественные опухоли у человека и животных. Среди них вирусы миксомы и фибромы кроликов, фибромы зайцев и белок. Вирус миксомы вызывает мелкие слизистые опухоли в таком количестве, что зараженное животное гибнет. Этот вирус может быть причиной большого экономического ущерба в кролиководческих хозяйствах, а также используется для контроля численности кроликов в природе. Вирусы фибром вызывают у своих естественных хозяев доброкачественные опухоли с коротким инкубационным периодом (1–2 недели).

Описаны также два поксвируса обезьян — вирус Яба и танапоксвирус, вызывающие кожные доброкачественные опухоли — гистиоцитомы у приматов. При случайной инокуляции в лаборатории было показано, что вирус Яба может вызвать опухолевый рост у человека. Описаны случаи заражения детей в Заире танапоксвирусом обезьян с образованием типичных кожных опухолевых поражений. Вирус, по-видимому, передавался членистоногими.

Доброкачественное опухолевое кожное заболевание человека — контагиозный моллюск также вызывается специфическим поксвирусом, патогенным только для людей. Это заболевание встречается по всему свету, но особенно распространено на островах Тихого океана (Фиджи, Папуа-Новая Гвинея, Соломоновы острова), где обнаруживается у 5% населения. Единичные или множественные безболезненные кожные опухоли размером 1–10 мм имеют жемчужный оттенок и располагаются по всему телу, кроме ладоней и подошв. Вирус не удается культивировать in vitro.

Онкогенные поксвирусы размножаются в трансформированных ими клетках. Носители опухолей заразны для других особей. Передача инфекции происходит контактным путем или через членистоногих.

21.4.10. Онкогенные гепаднавирусы

Эти вирусы, являющиеся возбудителями гепатита В человека и животных (*см. главу 21.3.2*), вызывают гепатомы у своих хозяев в естественных условиях. Это показано, по крайней мере, для трех гепаднавирусов — вируса гепатита В человека, вируса гепатита лесного сурка и вируса гепатита пекинских уток.

Вирус гепатита В широко распространен в человеческой популяции — до 30% людей инфицированы этим вирусом, около 3–4% являются вирусоносителями (свыше 200 млн. человек) и пожизненно содержат в крови вирус и вирусные антигены. В пожилом возрасте некоторая часть носителей заболевает раком печени (латентный период составляет десятки лет). Как правило, опухоль развивается на фоне хронического гепатита. Исследования показали, что частота развития гепатомы у вирусоносителей в 230 раз выше, чем у других людей. Гепатомы, которые относительно редко встречаются в Северной Америке, Европе и несколько чаще в России, являются настоящим бедствием в Юго-Восточной Азии и некоторых других районах мира, где могут составлять до 20% всех злокачественных опухолей и выходят на первое место как причина смерти от онкологических заболеваний.

Механизм опухолеродного действия гепаднавирусов не ясен. В клетках гепатом обычно обнаруживается вирусная ДНК в интегрированном состоянии и вирусные белки. Однако они же обнаруживаются и в неопухолевой ткани печени.

Вакцины, разработанные для профилактики гепаднавирусной инфекции человека, должны привести не только к уменьшению заболеваемости гепатитом В, но и внести важный вклад в снижение онкологической заболеваемости.

21.4.11. Онкогенные ретровирусы (онковирусы)

В подсемействе онковирусов выделяют три рода (*см. табл. 21.3*):

1) вирусы типа С;

2) вирусы типа В (вирус рака молочных желез мышей);

3) вирусы типа D (неокогенные вирусы макак, лангуров и беличьих обезьян).

Среди вирусов типа С выделяют три подрода:

1) вирусы типа С млекопитающих (вирусы лейкозов и сарком мышей, кошек, обезьян);

2) вирусы лейкозов и сарком птиц;

3) вирусы бычьего лейкоза и Т-клеточного лейкоза человека;

Вирионы онковирусов содержат 60–70% белка, 30–40% липидов, 2–3% углеводов, 1% РНК. Они чувствительны к жирорастворителям, детергентам, повышенной температуре (при 50°С полная инактивация происходит за 15–30 мин.). В состав вириона входит несколько белков:

1) два белка вирусной оболочки, из которых построены отростки вириона;

2) четыре внутренних белка, в том числе главный внутренний белок вириона, из которого построен икосаэдрический капсид;

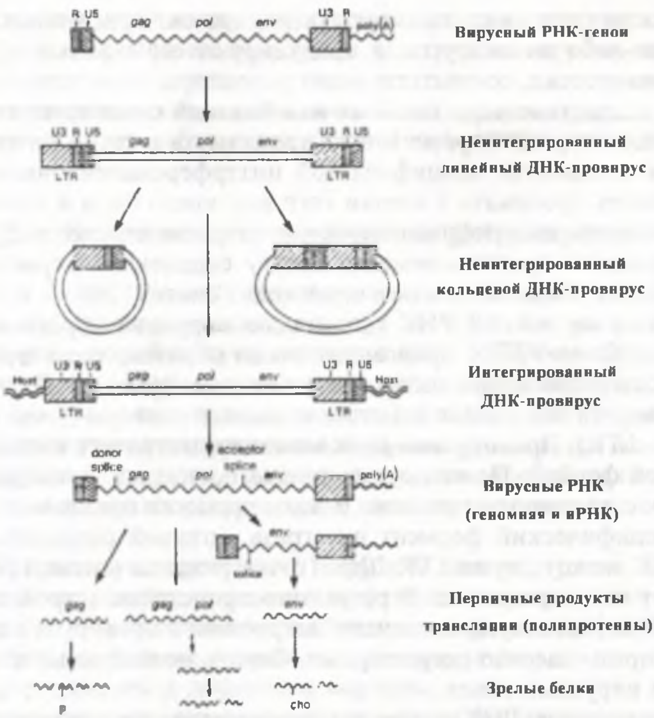


Рис. 21.21. Схема репликации онковируса:
R — прямые концевые повторы в вирусной РНК;
U5, *U3* — регуляторные области на 5'- и 3'- концах вирусной РНК;
gag, pol env — вирусные гены; *LTR* — длинные концевые повторы в ДНК-провирусе; *host* —клеточная ДНК;
donor и *acceptor splice* — начало и конец сплайсинга;
p и *cho* — точки фосфорилирования (*p*) и гликозилирования (*sho*) белков

3) ферменты (обратная транскриптаза, протеаза).

Геном онковирусного вириона состоит из двух идентичных однонитевых линейных молекул РНК, связанных в комплекс водородными связями при участии двух молекул клеточной тРНК. Геном онковирусов обязательно содержит три гена:

1) gag — кодирует внутренние структурные белки вириона;
2) pol — кодирует ферменты, входящие в состав вириона;
3) env — кодирует белки капсида. По концам генома имеются прямые повторы нуклеотидов и две регуляторные области (см. рис. 21.21).

Репродукцию онковирусов анализируют, используя клеточные культуры. Адсорбция и проникновение вируса в клетку осуществляется за счет взаимодействия отростков вирионной оболочки со спе-

цифическими для каждого вируса рецепторами. Если клетки заражены каким-либо онковирусом и продуцируют его главный оболочечный гликопротеид, соответствующие рецепторы захватываются этим белком, вследствие чего такой же или близкий онковирус, использующий этот же рецептор, не может проникнуть в такие клетки. Этот феномен называется специфической интерференцией онковирусов. Способность проникать в клетки того или иного вида животных является важным классификационным критерием для онковирусов.

В процессе проникновения в клетку сердцевина вириона освобождается от оболочки и в нем происходит синтез ДНК — провируса на матрице вирионной РНК с помощью вирусной обратной транскриптазы. Синтез ДНК происходит таким образом, что в ней содержится вся нуклеотидная последовательность вирусной РНК, а на концах провируса возникают длинные концевые повторы (*Long terminal repeat* — LTR). Провирусная ДНК может существовать в линейной и кольцевой формах. По-видимому, только последняя способна интегрировать с клеточным геномом. В этом процессе принимает участие вирусспецифический фермент интеграза, который разрывает вирусную ДНК между двумя LTR ДНК (точка разрыва неспецифична), и сближает места разрывов. В результате происходит встройка вирусной ДНК в клеточную, по концам встроенного провируса находятся LTR, которые содержат регуляторные области, необходимые для транскрипции вирусных генов.

Транскрипция ДНК-провируса осуществляется клеточной РНК-полимеразой II, ответственной за синтез клеточных иРНК. Первичный транскрипт идентичен вирионной РНК. Он кодирует синтез белков gag и pol. Специальная РНК, кодирующая белки env, образуется из первичных транскриптов путем сплайсинга. Синтезируются полные белковые продукты генов gag, pol и env в виде полипротеиновых предшественников, которые затем разрезаются на отдельные белки. Белковый продукт гена env гликозилируется до разрезания; после протеолитического разрезания его части остаются связанными S–S-связями.

Формирование вириона происходит путем почкования на клеточной мембране. После отделения от клетки происходит внеклеточное дозревание вириона (ситуация, уникальная среди вирусов!).

Клетки, зараженные онковирусами, обычно хронически продуцируют вирус без цитолиза. Иногда за счет действия оболочечных белков в зараженных клетках происходит симпластообразование — возникают гигантские многоядерные клетки.

Антигенные свойства онковирусов важны для их классификации и идентификации. Наиболее хорошо изучены антигенные характеристики главного внутреннего белка (ГВБ) (p24–p36). Этот белок несет 4 вида антигенных детерминант:

1) типоспецифические, характерные для данного вируса;

2) группоспецифические, общие для группы вирусов, имеющих одного и того же хозяина;

3) межвидовые, общие для нескольких групп вирусов;

4) межродовые, общие для онковирусов, относящихся к разным родам.

21.4.12. Экзогенные и эндогенные ретровирусы

При изучении ретровирусов было открыто удивительное явление, не характерное для любых других групп вирусов: некоторые ретровирусы способны существовать в форме ДНК-провируса, который находится в геноме всех клеток организма и передается вертикально генетическим путем, подобно обычным клеточным генам. Такие ретровирусы называют *эндогенными*. Один и тот же эндогенный вирус присутствует практически у всех особей данного вида. Феномен эндогенных ретровирусов характерен только для подсемейства Oncovirinae.

ДНК-провирус эндогенного вируса может содержать все гены, необходимые для формирования инфекционных вирионов (полный провирус), или может иметь генетические дефекты (дефектный провирус). Если дефект не затрагивает ген gag, а только env и/или pol, могут формироваться дефектные вирионы.

Предполагается, что эндогенные вирусы возникают из обычных экзогенных ретровирусов в результате заражения последними зародышевых клеток. Если присутствие эндогенного вируса в геноме всех клеток организма полезно хозяину, он приобретает селективное преимущество и становится родоначальником популяции, все особи которой содержат данный вирус. Эндогенные вирусы обнаружены у многих видов млекопитающих, а также у дрозофилы. У человека обнаружены дефектные эндогенные провирусы. По-видимому, эндогенные ретровирусы имеются у большинства животных и людей.

Вследствие своих особенностей эндогенные вирусы ограничены одним видом животного и эволюционируют вместе с ним. Накопление мутаций в вирусном геноме приводит к существованию в клетке дефектных провирусов, частично или полностью неспособных осуществлять вирусспецифические функции. Поэтому эндогенные вирусы лишь изредка существуют в форме полного провируса. Чаще клеточный геном служит «кладбищем» внедрившихся, но не сохранивших свою функциональную активность ретровирусных генов. Действительно, около 0,3% (!) ДНК мышиных клеток имеет ретровирусное происхождение.

Значение эндогенных ретровирусов в патологии неясно. Показано, что они могут играть этиологическую роль при лимфоидном лей-

козе и раке молочных желез у мышей некоторых линий. Возможна их роль в аутоиммунных процессах. Их значение для опухолевой патологии человека и неинбредных животных сомнительно.

21.4.13. Ретровирусы — возбудители опухолевых заболеваний

Твердо доказана роль экзогенных ретровирусов в этиологии лейкозов кур, мышей, кошек, обезьян, крупного рогатого скота, а также при Т-клеточном лейкозе взрослых у человека.

Экзогенные вирусы кур относятся к 4 подгруппам — A, B, C, D, которые различаются по главным гликопротеидам оболочки. Эти вирусы, особенно подгруппы A, являются возбудителями лимфоидного лейкоза кур. Они очень широко распространены в птицеводческих хозяйствах и причиняют им серьезный ущерб. Лимфоидный лейкоз кур имеет длительный (несколько месяцев) латентный период и возникает лишь у небольшой части зараженных животных. Среди ретровирусов птиц имеются также высокоонкогенные возбудители, вызывающие опухоли через 3–20 дней после заражения практически у 100% животных. Это вирус саркомы Рауса и другие вирусы сарком, вирус рака почки, вирусы миелобластоза, эритробластоза и миелоцитоматоза. Вирусы сарком способны вызывать очаги опухолевого роста на хориоалантоисной оболочке куриного эмбриона (рис. 21.22).

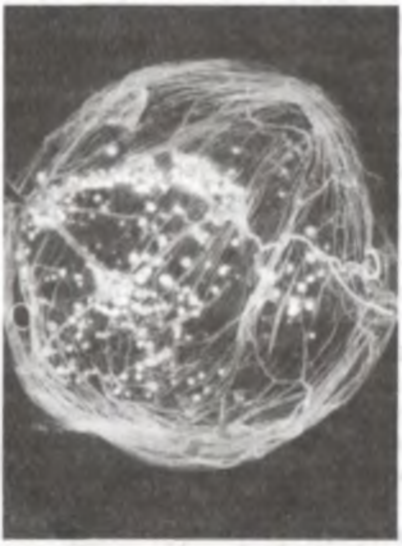


Рис. 21.22. Очаги опухолевого роста на хориоаллантоисной оболочке куринного эмбриона, зараженного вирусом саркомы Рауса

Геномы вирусов лимфоидного лейкоза обезьян (гибонов) содержат три обычных ретровирусных гена (gag, pol, env). Геномы высокоонкогенных вирусов содержат онкогены, наличие которых объясняет патогенность этих вирусов. Онкогены встроены в вирусный геном так, что повреждают один или более вирусных генов. Онкоген может локализоваться в любой части генома. Общим принципом является сохранность концов вирионной РНК, приводящая к наличию правильно организованных LTR в ДНК-провирусе и сохранению сигналов, необходимых для транскрипции, трансляции и упа-

ковки образующейся вирусной РНК в вирионы. Популяция любого высокоонкогенного ретровируса, содержащего онкогены, состоит из двух типов вирионов: 1) дефектные вирионы, геном которых содержит онкоген, замещающий вирусные гены; 2) вирус-помощник, который содержит нормальный ретровирусный геном (вирус лимфоидного лейкоза). Для размножения такого ретровируса необходима смешаная инфекция клетки обоими типами вирионов.

Особое место среди ретровирусов занимает вирус рака молочных желез мышей (ВРМЖ) — один из немногих ретровирусов, вызывающих не лейкозы и саркомы, а эпителиальные опухоли. Известны эндогенные и экзогенные варианты этого вируса, отличающиеся по онкогенности.

Особняком стоит также группа ретровирусов, куда входят два вируса Т-клеточного лейкоза человека — ВТЛЧ-1 (рис. 21.23), ВТЛЧ-2 и вирус бычьего лейкоза. Т-клеточный лейкоз взрослых был выделен в самостоятельную нозологическую единицу лишь в конце 70-х годов в Японии. Это заболевание является эндемичным в некоторых районах мира (Карибские о-ва, юго-западная Япония и др.). Вне эндемических районов антитела к ВТЛЧ встречаются менее чем у 0,1% населения, в эндемических районах — у 10–15%. Практически у всех заболевших обнаруживаются антитела, а в опухолевых клетках — вирусные антигены и нуклеиновые кислоты. Инфекция передается, по-видимому, при попадании лимфоцитов от инфицированного человека к заражаемому (половой путь, переливание крови, грязные шприцы). ВТЛЧ — один из немногих вирусов лимфоидного лейкоза, способный трансформировать нормальные зрелые Т-лимфоциты в культуре. Механизм трансформации заключается в индукции синтеза рецепторов к фактору роста Т-клеток — интерлейкину-2 (число рецепторов в зараженной клетке возрастает в 50–100 раз). В результате такие клетки начинают стабильно размножаться. Иногда трансформированные клетки начинают продуцировать и сам фактор роста. В этом случае имеет место аутокринная стимуляция.

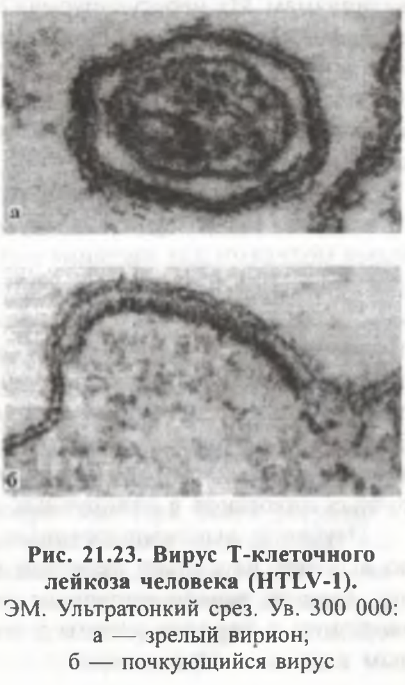


Рис. 21.23. Вирус Т-клеточного лейкоза человека (HTLV-1).
ЭМ. Ультратонкий срез. Ув. 300 000:
а — зрелый вирион;
б — почкующийся вирус

Вирусы этой группы не имеют онкогена клеточного происхождения, подобно другим ретровирусам, способным трансформировать клетки. В дополнение к обычным ретровирусным генам (gag, pol, env) эти вирусы имеют 4-й ген X, белок которого резко стимулирует транскрипцию ДНК-провируса этих агентов. Возможно, с функцией этого белка (pX) связана активация определенных клеточных генов. По-видимому, стимуляция размножения зараженных Т-лимфоцитов — лишь первый этап канцерогенеза. На фоне усиленной репродукции и генетической нестабильности таких клеток в одной из них происходит неизвестная онкогенная мутация, и такая клетка становится родоначальницей популяции лейкозных клеток. Это объясняет, почему лейкоз, вызванный вирусом, является моноклональным.

Хотя высокоонкогенные вирусы животных выделены из спонтанных опухолей и лейкозов, они встречаются крайне редко, так как неспособны сохраняться в естественных условиях из-за своей высокой патогенности. Такие вирусы изредка возникают из низкоонкогенных возбудителей лимфоидного лейкоза, которые в результате рекомбинационных событий захватывают из клетки нормальные гены, имеющие отношение к регуляции клеточного деления. В составе вирусного генома такие гены экспрессируются под контролем сильных вирусных промоторов и не подчиняются клеточным регуляторным механизмам. Их нерегулируемая экспрессия ведет к неопластической трансформации клетки. При пассажах через организм чувствительных животных в лаборатории отбираются наиболее онкогенные варианты вируса с соответствующими мутационными изменениями в захваченном клеточном гене, который превращается в вирусный онкоген — v-onc (табл. 21.5).

Высокоонкогенные ретровирусы, не имея большого практического значения как возбудители опухолей в природе, являются незаменимыми моделями для изучения механизма канцерогенеза, идентификации онкогенов и поиска их клеточных предшественников. Нормальные клеточные гены, которые в составе вирусного генома превращаются в v-onc, обозначаются как протоонкогены. Следует отметить, что в результате мутаций, включая перестройку хромосом, протоонкогены могут превращаться в онкогены и без участия вируса. В этом случае говорят о клеточных онкогенах (c-onc). На основе изучения вирусных онкогенов разработаны подходы к выявлению клеточных онкогенов в невирусных опухолях.

Изучение высокоонкогенных ретровирусов животных позволило выявить несколько десятков вирусных онкогенов. Протоонкогены, давшие начало вирусным онкогенам, высококонсервативны в эволюции и нередко сходны у животных, относящихся даже к разным классам позвоночных.

Таблица 21.5

Некоторые онкогены ретровирусов (v-onc)

V-onc	Вирус	Происхождение	Активность белка
Src	Вирус саркомы Рауса	Курица	Тирозинкиназа
Ros	Вирус саркомы UR II	Курица	Тирозинкиназа
Yes	Вирус саркомы Y73	Курица	Тирозинкиназа
Myc	Вирус миелоцитоматоза кур	Курица	Связывается с ДНК
Myb	Вирус миелобластоза кур	Курица	Связывается с ДНК
Abl	Вирус лейкоза Абельсона	Мышь	Тирозинкиназа
Mos	Вирус саркомы Молони	Мышь	
Ras	Вирус саркомы Харви и Кирстен	Мышь	Связывает ГДФ/ГТФ
Fos	Вирус остеосаркомы FBJ	Мышь	Связывается с ДНК
Fes/fps	Вирус саркомы кошек ST/ Вирус саркомы кур Фуджинами	Кошка/Курица	Тирозинкиназа
Fgr	Вирус саркомы кошек GR	Кошка	Тирозинкиназа
Fms	Вирус саркомы кошек MD	Кошка	Фактор роста гранулоцитов
Sis	Вирус саркомы обезьян	Обезьяна	Фактор роста тромбоцитов

Продукты ретровирусных онкогенов кодируют регуляторные белки, важные для контроля клеточного цикла. Они разнообразны по своей функциональной активности.

Канцерогенез, вызываемый низкоонкогенными (лейкемогенными) вирусами, отличается по своему механизму от канцерогенеза, вызываемого высокоонкогенными ретровирусами. Эти вирусы не имеют онкогенов и должны создать их, по крайней мере, в некоторых зараженных клетках. В ДНК лейкемических клеток был выявлен ретровирусный ДНК-провирус, встроившийся в клеточный геном рядом с протоонкогеном myc. Экспрессия этого гена осуществлялась с сильного вирусного промотора, локализованного в LTR, и в 50–100 раз превышала уровень его обычной экспрессии. При такой регуляции протоонкоген превратился в клеточный онкоген c-myc, ответственный за появление опухолевого фенотипа исходной клетки и ее потомства. Поскольку такая встройка провируса носит случайный характер и достаточно редка, этот феномен объясняет низкую онкогенность, моноклональность и длительный латентный период заболевания.

21.5. ВОЗБУДИТЕЛИ МЕДЛЕННЫХ ИНФЕКЦИЙ

21.5.1. История открытия

История изучения медленных инфекций как научной проблемы началась с середины XX в., уже после того, как были достигнуты крупные успехи в медицинской вирусологии, связанные с открытием и изучением многочисленных вирусных агентов — возбудителей острых лихорадочных заболеваний.

В марте 1954 г. в Лондонском университете профессор Бьёрн Сигурдсон прочитал цикл лекций под общим названием «Наблюдения за тремя медленными инфекциями овец». В них он изложил результаты своих многолетних исследований неизвестных ранее массовых заболеваний среди овец, импортированных в Исландию для развития каракулеводства.

У животных, которые долгое время казались здоровыми, первые признаки болезни появлялись только через много лет после прибытия на остров. При этом у одних животных были обнаружены поражения в легких, у других — в центральной нервной системе. Однако, несмотря на явные клинические различия и неодинаковую локализацию повреждений органов и тканей, Сигурдсон сумел обнаружить принципиальное сходство данных заболеваний, которое выражалось не только в многолетнем инкубационном периоде, но и в медленном неуклонном (без ремиссий) нарастании симптомов, что принципиально отличало их от группы известных хронических инфекций, протекающих с ремиссиями на протяжении своего развития. Все изученные болезни овец заканчивались летальным исходом. Учитывая эти и некоторые другие особенности, Сигурдсон предложил обозначить подобного рода болезни как «медленные инфекции». Среди них была и давно известная болезнь овец — скрепи, первые сообщения о которой относятся к середине XVIII в. А в конце XIX в. была доказана инфекционная природа скрепи при заражении здоровой овцы мозговой тканью больного животного.

Все полученные Сигурдсоном результаты были суммированы в виде четырех главных признаков, отличающих медленные инфекции:

1. *Необычно продолжительный (месяцы и годы) инкубационный период.*
2. *Медленно прогрессирующий характер течения.*
3. *Необычность поражения органов и тканей.*
4. *Неизбежность смертельного исхода.*

Три года спустя на острове Новая Гвинея К. Гайдушек и В. Зигас обнаружели и описали новое заболевание среди папуасов-каннибалов, которое известно сегодня под названием «куру». Болезнь носила массовый характер и вскоре была доказана ее инфекционная природа. Это заболевание сразу же привлекло к себе внимание сходством между клиническими проявлениями (двигательные расстройства) и характером поражений (только центральной нервной системы) при куру у человека и скрепи у овец. Отсюда был сделан главный вывод — *медленные инфекции поражают не только животных, но и человека.*

21.5.2. Медленные вирусные инфекции

Массовый характер медленных инфекций, естественно, поставил вопрос об их этиологии, и начавшиеся энергичные поиски в этом направлении вскоре принесли свои плоды. В 1960 г. было обнаружено, что одна из типичных медленных инфекций овец — висна — вызывается вирусом, оказавшимся по структурным, химическим и биологическим свойствам очень сходным с представителями хорошо известного семейства онкорнавирусов. Данное открытие в большой мере способствовало укреплению представления о вирусной этиологии всех без исключения медленных инфекций человека и животных и на многие годы предопределило поиски в указанном направлении. Этому утверждению способствовало открытие вирусной природы типичной медленной инфекции детей и подростков — подострого склерозирующего панэнцефалита (ПСПЭ), известного еще с 1933 г. Оказалось, что данное заболевание вызывает вирус кори — возбудитель давно известной детской инфекционной болезни.

Открытие коревой природы ПСПЭ знаменовало важную веху в истории изучения медленных инфекций, так как оно прямо свидетельствовало о необязательности развития только острого инфекционного процесса при встрече вируса с организмом и стимулировало активные поиски вирусов при многих других медленных инфекциях у человека и животных. За короткое время был накоплен большой и весьма неожиданный фактический материал: оказалось, что очень многие вирусы — возбудители острых заболеваний, способны при определенных условиях вызывать в организме медленный инфекционный процесс, полностью отвечающий всем четырем признакам медленных инфекций. В числе таких вирусов оказались вирусы кори, краснухи, герпеса, клещевого энцефалита, лимфоцитарного хориоменингита, африканской лихорадки свиней, инфекционной анемии лошадей, бешенства, вирусы семейства папова, гриппа, СПИДа и др. (табл. 21.6).

Таблица 21.6

Медленные вирусные инфекции

Нозологическая форма	Возбудитель
Человек	
Подострый склерозирующий панэнцефалит	Парамиксовирус — вирус кори
Подострый послекоревой лейкоэнцефалит	То же
Прогрессирующая врожденная краснуха	Тогавирус — вирус краснухи
Прогрессирующий краснушный панэнцефалит	То же
Подострый герпетический энцефалит	Герпетовирус — вирус простого герпеса
» аденовирусный »	Аденовирус — аденовирусы типа 7 и 32
Прогрессирующая многоочаговая лейкоэнцефалопатия	Паповавирусы — вирус JC и OB-40
Хронический инфекционный мононуклеоз	Герпетовирус — вирус Эпштейна–Барр
Цитомегаловирусное поражение мозга	Герпетовирус — цитомегаловирус
Кожевниковская эпилепсия и прогрессирующий бульбарный паралич	Тогавирус — вирус клещевого энцефалита
Хронический менингоэнцефалит при иммунодефиците	Пикорнавирус — вирусы полиомиелита и ECHO
Сывороточный гепатит	Гепаднавирус — вирус гепатита В (частицы Дейна)
	Гепаднавирус — вирус D (дельта-антиген)
Инфекционный гепатит	Пикорнавирус — вирус гепатита А
Посттрансфузионный гепатит ни А, ни В	Вирус гепатита С, Е
Эпидемический гепатит ни А, ни В	Вирус гепатита С, Е
Синдром приобретенного иммунодефицита	Ретровирус — вирус иммунодефицита человека
Т-клеточная лимфома	Ретровирусы — онкорнавирусы HTLV-I и HTLV-II
Балканская эндемическая нефропатия	Неклассифицированный вирус
Бешенство	Рабдавирус — вирус бешенства
Лимфоцитарный хориоменингит	Аренавирус — вирус лимфоцитарного хориоменингита
Животные	
Висна	Ретровирус — вирус висны
Инфекционная анемия лошадей	Ретровирус — вирус инфекционной анемии лошадей
Болезнь Борна	Ретровирус (не классифицирован)
Алеутская болезнь норок	Парвовирус — вирус алеутской болезни норок
Лимфоцитарный хориоменингит мышей	Аренавирус — вирус лимфоцитарного хориоменингита
Бешенство	Рабдавирус — вирус бешенства
Африканская лихорадка свиней	Иридовирус — вирус африканской лихорадки свиней
Медленная гриппозная инфекция мышей	Ортомиксовирус — вирус гриппа А

21.5.3. Медленные инфекции, вызываемые прионами (прионные болезни)

Начиная с сообщений Сигурдсона, в литературе постепенно накапливались данные об особой группе медленных инфекций человека и животных, патология которых весьма существенно отличалась выраженным своеобразием, проявляющимся в глубоких поражениях только центральной нервной системы. Действительно, на основе первично-дегенеративных (без признаков воспаления) процессов в мозговой ткани головного, а иногда и спинного мозга медленно развивается характерная картина вакуолизации серого и/или белого вещества, которая становится столь выраженной, что на гистологических срезах мозговая ткань напоминает вид губки. Отсюда и название — *губкообразное состояние*, или *спонгиоз* (лат. *spongia* — губка). Развитие губкообразного состояния мозговой ткани, как правило, сопровождается образованием амилоидных бляшек (амилоидоз) в мозге и разрастанием глиозной ткани (глиоз).

Подобное своеобразие патоморфологической картины определило и первичное (и до сих пор используемое) название всей группы этих заболеваний как «трансмиссивные губкообразные энцефалопатии». Именно трансмиссивность губкообразных изменений только в центральной нервной системе и является их патогномоничным признаком.

На протяжении нескольких десятилетий все попытки обнаружить возбудителей трансмиссивных губкообразных энцефалопатий заканчивались неудачей, хотя их инфекционная природа была точно доказана многочисленными опытами передачи заболеваний от больных животных (или людей). В это же время постепенно накапливались данные, которые позволяли судить о некоторых свойствах предполагаемых возбудителей этих загадочных заболеваний.

Не имея возможности работать с выделенным этиологическим агентом, исследователи предпринимали разностороннее изучение свойств инфицированной мозговой ткани, наивысшее содержание инфекционного агента в которой было давно установлено. При этом оказалось, что предполагаемый инфекционный агент:

1) способен проходить через бактериальные фильтры с диаметром пор от 25 до 100 нм;

2) не способен размножаться на искусственных питательных средах;

3) вызывает гибель зараженных животных при высоких значениях ИД50;

4) накапливается до концентраций 105–1011 ИД50 в 1 г мозговой ткани;

5) первоначально накапливается в селезенке и других органах ретикулоэндотелиальной системы, а затем в мозговой ткани;

6) адаптируется к новому хозяину, что нередко сопровождается укорочением инкубационного периода;

7) характеризуется наличием генетического контроля и чувствительности некоторых хозяев (например, у овец и мышей для возбудителя скрепи);

8) имеется специфический круг хозяев для данного штамма возбудителя;

9) возможны изменения патогенности и вирулентности у разных штаммов для различного круга хозяев; селекция штаммов из дикого типа; воспроизведение феномена интерференции (например, медленно накапливающегося штамма возбудителя скрепи с быстро накапливающимся штаммом в организме мышей), а также персистенция в культуре клеток, как полученных из органов и тканей зараженного организма, так и зараженных in vitro.

Обнаружение перечисленных признаков, характерных для широко известных вирусов человека и животных, достаточно убедительно объясняет многолетний устойчивый интерес вирусологов к поиску возбудителей трансмиссивных губкообразных энцефалопатий (ТГЭ).

Наряду с приведенными выше признаками у возбудителей ТГЭ были обнаружены свойства, которые значительно отличались от таковых у всех известных вирусов. Так, возбудители ТГЭ оказались устойчивыми к действию бета-пропиолактона, формальдегида, глютаральдегида, нуклеаз (РНК-азы А и III, ДНК-азы I), псораленов, нагревания до 80°С (при неполной инактивации даже в условиях кипячения), УФ-лучей, ионизирующей радиации, ультразвука.

Перечисленные выше своеобразные свойства дали основание рассматривать возбудителей ТГЭ как «необычные вирусы», и сами медленные инфекции некоторое время подразделяли на две группы: медленные инфекции, вызываемые обычными вирусами, и медленные инфекции, вызываемые необычными вирусами. Однако в начале 80-х годов С. Прузинер, используя новые подходы к накоплению и очистке инфекционного материала в мозговой ткани зараженных скреписодержащим материалом хомяков, обнаружил, что возбудителем наиболее распространенной в природе ТГЭ — скрепи (заболевание, встречающееся в природе среди овец и коз) — является *безнуклеиновый низкомолекулярный (27–30 килодальтон) белок,* который он назвал «инфекционный прионный белок». В качестве инфекционной единицы С. Прузинер предложил наименование «прион». Термин «прион» образован как анаграмма английских слов «белковая инфекционная (частица)» — «proteinaceous infectious (particle)». Прион как инфекционная единица состоит из молекул инфекционного прионного белка. Сам С. Прузинер определил прион как малую белковую

инфекционную частицу, устойчивую к инактивирующим воздействиям, которые модифицируют нуклеиновые кислоты.

Результаты исследований последних 15 лет полностью подтвердили прионную природу возбудителей ТГЭ и на этом основании подобные заболевания обозначают теперь как «прионные болезни».

Прионный белок может существовать в двух формах. Его нормальная, клеточная форма, обозначенная как PrPC (аббревиатура от англ. — *Prion Protein of Cell*) обнаруживается в организме всех млекопитающих, включая и человека. Ген, кодирующий PrPC, расположен в коротком плече хромосомы 20 у человека и хромосомы 2 — у мыши. Он является высококонсервативным и очень высокие уровни его экспрессии обнаруживаются в нейронах, где концентрация иРНК для PrPC примерно в 50 раз выше, чем в глии. Более низкие уровни экспрессии гена можно обнаружить и в других тканях. PrP-ген регулируется в процессе развития и поддерживает устойчивую экспрессию во время всей жизни организма.

Нормальный прионный белок PrPC играет черезвычайно важную роль в жизнедеятельности организма: он участвует в передаче нервных импульсов и, самое главное, — клеточный прионный белок играет определяющую роль в поддержании так называемых циркадианных ритмов (лат. *cirka* — около и *dies* — день), регулируя суточные циклы активности и покоя в клетках, органах и в организме в целом.

В организме людей и животных, страдающих прионными болезнями, прионный белок обнаруживается в другой форме, обозначаемой как PrPSc. Подобная аббревиатура обусловлена тем, что природным резервуаром инфекционной формы прионов служат овцы и козы, у которых спонтанно может развиваться уже упомянутое ранее заболевание под названием «скрепи».

Конверсия PrPC в PrPSc представляет собой посттрансляционный процесс, включающий глубокое конформационное изменение , которое и является фундаментальным событием, лежащим в основе размножения инфекционных прионов. Нужно добавить, что помимо приобретенной прионным белком инфекционности, другим его принципиальным отличием от нормальной изоформы оказываются приобретенная высокая устойчивость к нагреванию, ультрафиолетовому свету, проникающей радиации и переваривающему действию протеазы.

Механизм накопления инфекционного прионного белка в зараженном организме сегодня точно не известен. Однако, исходя из определения, что в данном случае речь идет о посттрансляционном процессе, считается вероятным, что инфицирующий прионный белок вызывает в здоровом организме трансформацию нормального прионного белка в его инфекционную форму за счет конформационных (пространственных) изменений. В частности, об изменении третичной или даже четвертичной структуры исходного белка PrPC. Таким образом

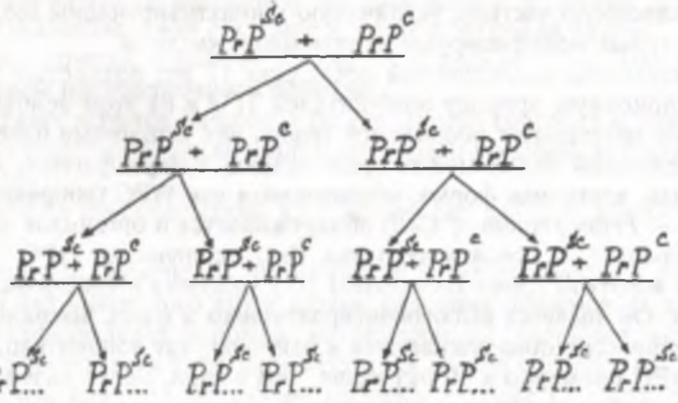


Рис. 21.24. Схема процесса накопления молекул инфекционного прионного белка

процесс накопления инфекционного прионного белка происходит не в результате синтеза в зараженном организме молекул PrPSc de novo, а вследствие конформационных изменений уже синтезированных нормальных молекул PrPC под влиянием молекул инфекционного прионного белка PrPSc (рис. 21.24).

Как показано на схеме, процесс накопления инфекционного прионного белка обусловлен прежде всего необходимостью контакта двух молекул. В результате под влиянием молекулы PrPSc происходит трансформация одной молекулы PrPC в ее инфекционную форму PrPSc. Следующий этап включает в себя уже влияние двух молекул PrPSc, под воздействием которых образуются четыре молекулы PrPSc и т.д. Таким образом, процесс накопления инфекционного прионного белка носит лавинообразный характер.

Группа прионных заболеваний включает такие болезни животных как скрепи овец и коз, трансмиссивная энцефалопатия норок, хроническая изнуряющая болезнь некоторых видов оленей и лосей, губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота, губкообразная энцефалопатия кошек и губкообразная энцефалопатия экзотических копытных (табл. 21.7).

У человека прионные болезни встречаются редко, с частотой 1 на миллион в год. Исключение составляют лишь несколько регионов в мире, где заболеваемость оказывается значительно выше: Словакия, Израиль и Чили. К настоящему времени у людей описаны четыре прионные болезни: болезнь Крейтцфельда–Якоба, куру, синдром Герстманна–Штреусслера–Шейнкера и смертельная семейная бессоница (табл. 21.7). Куру и синдром Герстманна–Штреусслера–Шейнкера представляют собой клинические разновидности болезни Крейтцфель-

Таблица 21.7

Современная классификация прионных болезней человека и животных

Нозологическая форма	Естественный хозяин
Болезнь Крейтцфельда-Якоба	Человек
Куру	Человек
Синдром Герстманна–Штреусслера–Шейнкера	Человек
Смертельная семейная бессоница	Человек
Скрепи	Овцы и козы
Трансмиссивная энцефалопатия норок	Норки
Хроническая изнуряющая болезнь	Олени и лоси
Губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота	Коровы и быки
Губкообразная энцефалопатия кошек	Кошки
Губкообразная энцефалопатия экзотических копытных	Антилопы и большой куду

да–Якоба, различающиеся соотношением интенсивности спонгиоза, амилоидоза и глиоза в мозговой ткани. Отсюда понятно, что болезнь Крейтцфельда–Якоба служит как бы главным показателем степени риска заражения человека. Особого внимания заслуживает то обстоятельство, что, в отличие от всех известных инфекционных заболеваний, из 100% заболевающих в 85% случаев болезнь Крейтцфельда–Якоба возникает как спорадическое заболевание, как правило, у 40–69-летних людей; в 10–15% — как наследственное и менее чем в 1–5% случаев эта болезнь развивается как инфекционная, то есть в результате типичного внешнего заражения. Здесь речь идет о так называемых ятрогенных случаях, связанных с медицинскими манипуляциями или пересадками тканевых материалов от человека к человеку (табл. 21.8).

Как видно из табл. 21.8, все случаи ятрогенного заражения людей (как правило, молодого возраста), основаны на передаче им тканевых материалов или собственно инфекционного агента, сохранившегося в результате недостаточной стерилизации инструментария, использовавшегося людьми, находившихся в инкубационном периоде болезни Крейтцфельда–Якоба. Это послужило основной причиной широких эпидемиологических исследований болезни Крейтцфельда–Якоба с

Таблица 21.8

Ятрогенные случаи болезни Крейтцфельда–Якоба

Источник заражения	Количество случаев
Гормон роста (соматотропин	94
Гонадотропный гормон	4
Твердая мозговая оболочка	69
Роговица	3
Нейрохирургический инструментарий	4
Электроды для стереоэлектроэнцефалографии	2

целью определения путей заражения, частоты заболевания, географического распространения, семейных очагов, возможных связей с особенностями пищевого рациона. Последнее представляется особенно важным, так как на протяжении уже более 25 лет различные исследователи приводят статистические данные о возможной роли в возникновении болезни таких пищевых продуктов, как плохо проваренного мяса, мозга свиней и коров, особенно мозга и глазных яблок овец.

Растущий интерес к группе прионных болезней и роли в их возникновении пищевого фактора во многом обусловлен начавшейся в 1986 г. эпизоотией губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота («болезнь бешенной коровы») в Великобритании, на пике которой в 1992 г. регистрировалось около 1000 случаев заболеваний коров в неделю (рис. 21.25).

Источником инфекционного прионного белка оказалась длительное время употреблявшаяся для выкармливания молодняка мясо-костная мука, при производстве которой еще с начала 80-х годов стали использовать продукты убоя и головы овец. Помимо коров, заболевание в Великобритании зарегистрировано у ряда экзотических копытных (в том числе у 5 видов антилоп), что также явилось следствием использования в зоопарках для выкармливания молодняка мясо-костной муки.

Последующие звенья этой цепи событий представлены развитием прионных заболеваний и у некоторых представителей семейства кошачьих: болезнь была зарегистрирована у бродячих и домашних кошек, а также у пум, оцелотов и гепардов. Причины возникновения у них губкообразной энцефалопатии связаны с употреблением в пищу внутренностей и голов зараженных коров, что было доказано сравнительным анализом инфекционного прионного белка, выделенного от этих животных.

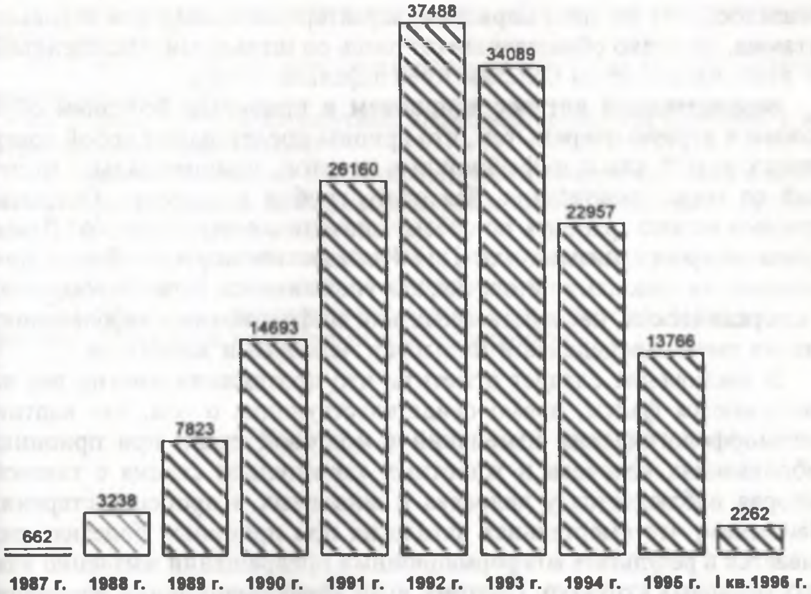


Рис. 21.25. Динамика подтверждения случаев губкообразной энцефалопатии коров в Великобритании (за 1987 – I кв. 1996 гг.)

Губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота, кроме Великобритании, зарегистрирована и в других странах: в Швейцарии, Ирландии, Португалии, Франции, Германии, Нидерландах, Италии, Омане, Канаде, Дании и на Фолклендских островах. Все эти случаи связаны либо с импортом зараженных животных, либо с импортом зараженной мясо-костной муки.

Анализ медицинских аспектов проблемы прионных болезней в первую очередь выдвинул главнейший вопрос: «Какова степень риска передачи заболевания от крупного рогатого скота человеку?» Актуальность подобной формулировки вскоре была подкреплена обнаружением в Великобритании, а затем и во Франции атипичных случаев болезни Крейтцфельда–Якоба среди людей молодого (до 40 лет) возраста, а также тем, что заражение коров, кошек, овец, коз, норок, мышей и других животных успешно происходит через желудочно-кишечный тракт.

Недавно на этот вопрос был дан утвердительный ответ на основании сравнительного изучения свойств штаммов инфекционного прионного белка, полученных: 1) от больных пожилых людей, погибших от обычной формы болезни Крейтцфельда–Якоба, 2) от больных молодых людей, погибших от атипичной формы болезни Крейтцфельда–Якоба и 3) от коров, погибших от губкообразной энцефалопатии.

Оказалось, что по трем маркерам, характерным только для коровьего штамма, сходство обнаруживается лишь со штаммами, выделенными от атипичной формы болезни Крейтцфельда–Якоба.

Возрастающий интерес к прионам и прионным болезням обусловлен в первую очередь тем, что прионы представляют собой совершенно новый класс инфекционных агентов, принципиально отличный от мира простейших, бактерий, грибов и вирусов. Открытие прионов можно сравнить по своему значению с открытием А. Левенгуком микроорганизмов или Д.И. Ивановским вирусов. Более того, вызываемая прионами патология, как упоминалось, может проявляться в спорадических, наследственных или инфекционных заболеваниях, что не имеет прецедента в патологии человека и животных.

В заключение следует отметить, что протяжении многих лет накапливаются факты, прямо свидетельствующие о том, что картина патоморфологических изменений в мозговой ткани при прионных заболеваниях человека и животных удивительно сходна с таковой, которая наблюдается у человека и животных в процессе старения. Напомним, что смертельная патология при прионных болезнях развивается в результате конформационных превращений жизненно важных белковых структур. Поэтому, если конформационные изменения белков млекопитающих определяют диапазон их действия от жизненно важных до смертельно опасных, то можно полагать, что именно конформационные белки могут выполнять роль главных регуляторов в организме, в том числе и такого важнейшего процесса как ограничение самой жизни.

Вопросы для самоконтроля

1. К каким последствиям приводят лимфотропные свойства вирусов и у каких из них они наиболее выражены?

2. Какие вирусы способны встраивать свой геном в хромосому клетки хозяина и каковы последствия этого процесса?

3. В составе каких вирусов обнаружена обратная транскриптаза и какова роль данного фермента в процессе их жизнедеятельности?

4. В чем состоят трудности создания вакцин против СПИДа, гриппа, гепатита А и В?

5. Перечислите вирусы, вызывающие преимущественно: а) респираторные инфекции, б) кишечные инфекции, в) нейроинфекции, г) детские инфекции.

6. Какие вирусы индуцируют опухоли у животных, человека и каков возможный механизм онкогенеза?

7. Какие химиотерапевтические препараты применяются для лечения СПИДа, гриппа и некоторых других вирусных заболеваний?

8. Возбудители каких вирусных инфекций представляют наибольшую эпидемическую опасность для населения и в чем состоят причины этой опасности?

9. В чем состоят трудности и недостатки лабораторной диагностики вирусных инфекций?

10. С какой целью при вирусологическом исследовании проводится типирование возбудителей?

11. Почему при многих вирусных инфекциях проходится прибегать к их ретроспективной диагностике?

12. Каковы объективные причины продолжительности вирусологической диагностики инфекций и какими методами удается сократить сроки исследования? Приветите примеры.

13. Какие биологические особенности отдельных видов вирусов используются при их дифференцировке и идентификации?

14. Почему при серологической диагностике вирусных инфекций, как правило, соблюдается «принцип парных сывороток»?

ГЛАВА 22
МЕДИЦИНСКАЯ МИКОЛОГИЯ

Немецкий патолог Р. Вирхов впервые в 1854 г. назвал грибковые заболевания людей и животных микозами. Впоследствии возбудители микозов привлекли к себе внимание многих биологов и врачей в различных странах, где стали формироваться микологические центры (Германия, Россия, Франция, США). Одним из основоположников медицинской микологии является французский ученый Р. Сабуро, который в 1910 г. опубликовал превосходную монографию о трихофитии, микроспории и фавусе. Предложенная им питательная среда до настоящего времени используется для культивирования микромицетов.

Особое место в развитии микологии в России принадлежит Н.В. Сорокину — автору четырехтомника «Растительные паразиты человека и животных как причина заразных болезней» (1882–86 гг.), в котором подробно описаны известные к тому времени заболевания, вызываемые грибами и бактериями.

Большой вклад в последующее развитие медицинской микологии в нашей стране внесли А.Н. Аравийский, А.М. Ариевич, П.Н. Кашкин, О.Н. Подвысоцкая и др. Из них следует особо выделить П.Н. Кашкина как основоположника эпидемиологии грибковых заболеваний.

В настоящее время известно около 80 тыс. видов грибов, из которых около 150 являются первично патогенными для человека и животных, а вместе с условно патогенными грибами перечень видов составляет около 500 наименований. Микромицеты, инфицирующие иммунодефицитных людей, вызывают оппортунистические микозы. Их число ежегодно возрастает. В настоящее время регистрируется около 2,5 млн. случаев оппортунистических микозов с показателем летальности более 4% (*см. 24.2.2.7*).

Факторами риска при глубоких микозах являются:

1) гормональные (диабет) и гематологические заболевания, иммунодефициты и злокачественные опухоли;

2) кортикостероидная, иммуносупрессивная, цитостатическая и антибактериальная терапия;

3) обширные хирургические вмешательства (на сердце, органах брюшной полости, трансплантация органов);

4) возраст пациентов, особенно новорожденные и пожилые люди, а также беременность; обширные травмы, ожоги.

22.1. СИСТЕМАТИКА ГРИБОВ

В связи с накопленными данными по цитологии, химии и генетике грибов их систематическое положение в мире живых существ существенно изменилось, и классификационная схема может быть представлена в следующем виде:

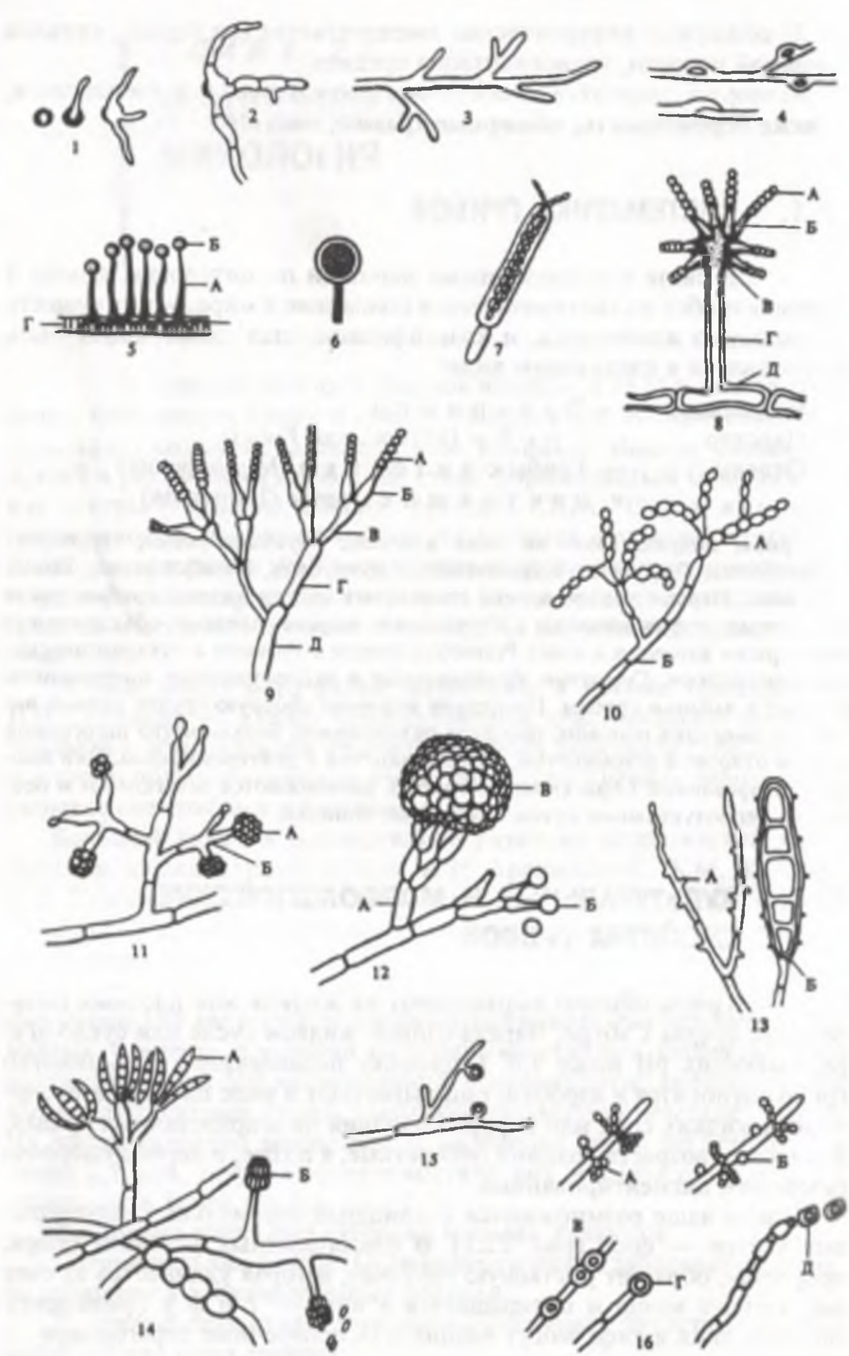
Надцарство — Э у к а р и о т ы
Царство — Г р и б ы (Mycota или Fungi)
Отделы — Грибы-с л и з е в и к и (Myxomycota)
и н а с т о я щ и е грибы (Eumycota)

Грибы подразделяют на семь классов: Chytridiomycetes, Hyphochytridiomycetes, Oomycetes, Zygomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes, Deuteromycetes. Первые четыре класса составляют группу низших грибов, ранее относимых к фикомицетам. Жгутиковые водные плесени объединяются некоторыми авторами в класс Protoctista вместе с Protozoa и эукариотическими водорослями. Сумчатые, базидиальные и несовершенные микромицеты относят к высшим грибам. Последние включает сборную группу разных видов, не имеющих полового процесса размножения. Большинство патогенных грибов относят к аскомицетам, базидиомицетам и дейтеромицетам. Они имеют септированные гифы (высшие грибы), размножаются вегетативно и бесполым репродуктивным путем с помощью конидий.

22.2. КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГРИБОВ

Грибы обычно выращивают на жидких или плотных питательных средах Сабуро, Чапека–Докса, жидком сусле или сусло-агаре, имеющих pH ниже 7,0. Поскольку подавляющее большинство грибов относится к аэробам, они вырастают в виде пленок на поверхности жидких сред или в форме колоний на агаризованных средах. В молодом возрасте колонии бесцветные, а позже, в период спорообразования, пигментированные.

Грибы чаще размножаются с помощью специальных зародышевых клеток — спор (рис. 22.1). В благоприятных условиях спора, прорастая, образует ростковую трубочку, которая удлиняется за счет дистального конца и превращается в нить — г и ф у (филамент). Впоследствии в гифе могут возникнуть поперечные перегородки —


1
2
3
4
5
Б
А
Г
6
7
8
А
Б
В
Г
Д
9
А
Б
В
Г
Д
10
А
Б
11
А
Б
12
В
А
Б
13
А
Б
14
А
Б
15
16
А
Б
В
Г
Д

с е п т ы, располагающиеся позади верхушки растущей нити. В таком случае образуется септированная гифа (у высших грибов). Некоторые грибы не образуют септ, и тогда грибная нить остается несептированной (у низших грибов) (см. рис. 22.1).

У базидиальных (высших) грибов, к которым относятся шляпочные съедобные и несъедобные (ядовитые) виды, возбудители криптококкоза, образуются так называемые пряжки (своеобразные маркеры для многих базидиомицетов), обеспечивающие контакт двух соседних клеток.

Продолжая расти и ветвиться, гифы переплетаются и образуют мицелий, который может быть рыхлым, как у плесеней, и компактным, как у плодовых тел шляпочных грибов. Та часть мицелия, которая врастает в субстрат, называется субстратным вегетативным мицелием; другая часть, направленная вверх (в воздух) и ответственная за спорообразование — репродуктивным мицелием. За счет вегетативных частей мицелия могут формироваться так называемые таллоспоры (грибы, в отличие от растений, не имеют дифференцированных структур типа корней, стеблей и листьев, поэтому их нередко называют *талломными организмами* (греч. *thallos* — слоевище). К ним относят: бластоспоры, например у Candida tropicalis; хламидоспоры (терминальные — у Candida albicans, интеркалярные, или промежуточные, — у Coccidioides immitis); артроспоры, например у Geotrichum candidum. Репродуктивный мицелий образует спорообразующие структуры, называемые спорофорами, и лишь в редких случаях спорофорами являются сами нити мицелия. Репродуктивный мицелий и образуемые им споры неодинаковы у разных представителей грибов, что используется для их идентификации и систематики.

Если терминальный конец спорофоры увеличивается в размере по мере роста и развития вида, а затем превращается в закрытое вместилище, где образуются споры, то их называют *эндоспорами*. Так, например, у Mucor mucedo спорофора представляет собой спорангиеносец, на терминальном конце которого находится закрытое вместилище — спорангий, содержащий спорангиоспоры. По мере созревания (рис. 22.2) спор происходит распад спорангиев либо вследствие повышенного внутреннего давления, либо в результате действия гидролитических ферментов, образуемых этим же видом. У некото-

Рис. 22.1. Морфология и строении грибов:

1 — прорастание споры; 2 — гифы с перегородками (септами); 3 — несептированная гифа; 4 — пряжки у базидиальных грибов; 5 — репродуктивный (А, Б) и вегатативный (Г) мицелий, А — спорангиеносец, Б — спорангии; 6 — спорангий со спорангиеспорами; 7 — зооспорангий с зооспорами; 8 — Aspirgillus sp.: А — кондии, Б — стеригмы, В — пузырек, Г — стебель, Д — опорная клетка; 9 — Penicillum sp.: А — кондии, Б — стеригма, В — метула, Г — веточка, Д — стебель; Fonsecaea sp.: А — кондии, Б — кондиеносец; 11 — Trichoderma sp.: А — кондии, Б — кондиеносец; 12 — Gliocladium sp.: А — кондиеносец, Б — кондии, В — слизь; 13 — Microsporum: А — микрокондии, Б — макрокондии; Fusarium sp.: А — макрокондии, Б — микрокондии; 15 — педицеллятные кондии; 16 — таллоспоры: А — бластоспоры, Б — псевдокондии, В — интеркалярная хламидоспора, Г — терминальная хламидоспора, Д — артроспора

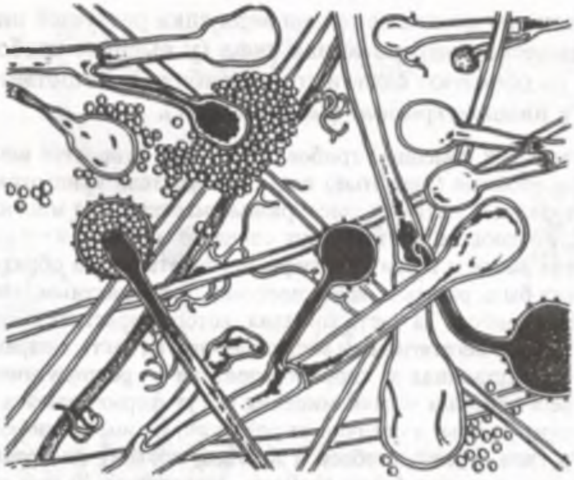


Рис. 22.2. Мукоровая плесень (Mucor)

рых грибов спорангиоспоры имеют жгутики, тогда они называются зооспорами, а спорангии — зооспорангиями.

Если спорофоры, образующие или не образующие терминальные утолщения, формируют свободные споры, то их называют *экзоспорами*, или *конидиями*, а спорофоры — *конидиофорами*, или *конидиеносцами*.

Число, размер, форма, строение конидий у разных грибов различны.

Эти признаки используют для дифференциации и классификации видов (особенно в группе несовершенных грибов), к которым относят многих возбудителей грибковых заболеваний.

У некоторых грибов конидиофоры высокоорганизованны и имеют характерные микроскопические структуры. Так, у аспергиллов конидиофор развивается из достаточно большой опорной клетки вегетативного мицелия. Затем он формирует терминальный пузырек (головку) с вырастающими из него бутылочковидными структурами — стеригмами («головчатая плесень») (рис. 22.3).

У пенициллов нет опорной вегетативной клетки, из которой возникает конидиофор, и не образуется терминального пузырька (головки), а путем ветвления формируется кисточка (отсюда название «кистевик», или «леечная плесень») (рис. 22.4).

Некоторые представители патогенных грибов похожи на пенициллы только внешне. Например, у Fonsecaea конидии не отчленяются от точки роста конидиеносца (стеригмы отсутствуют у этого вида), а возникают вследствие почкования конидиофора. После того как образуется первая конидия, она начинает почковаться, образуя вторую конидию и т.д., но на конидиофоре конидии больше не возникают, так как только терминальная конидия подвергается почкованию. Если при почковании формируются две почки — конидии, то образуется ветвистая цепочка.

Некоторые грибы, например Trichoderma, формируют на верхушках конидиофор глобулярные грозди из конидий; у других видов происходит слипание конидий в виде округлых масс (например, у Gliocladium) (см. рис. 21.1).

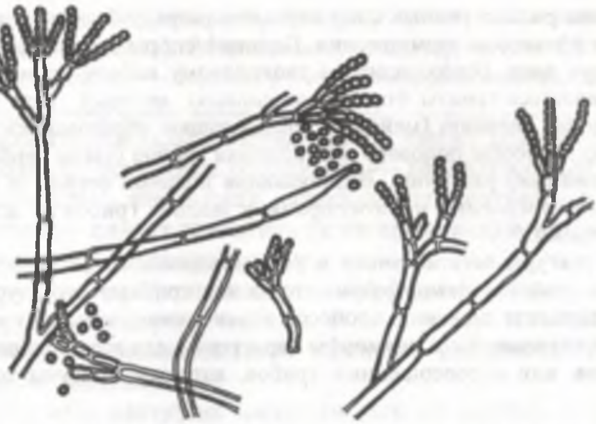


Рис. 22.3. Зеленая плесень — кистевик (Penicilium)

Рис. 22.4. Леечная плесень (Aspergillus)

Отдельные представители грибов образуют более чем один тип конидий на одной и той же грибнице (Fusarium, Microsporum). Одни конидии (одноклеточные) имеют небольшие размеры и называются микроконидиями, другие (многоклеточные) — большие и называются макроконидиями. Конидии могут возникать непосредственно на гифах без каких-либо поддерживающих структур. Это так называемые сидячие (сесильные, или латеральные) конидии, например бластоконидии (псевдоконидии). У Candida tropicalis они одиночные, латеральные, располагающиеся на боковых веточках гиф. Боковые одиночные микроконидии у возбудителей дерматомикозов называли *алейриями*. Иногда сидячие конидии располагаются группами в виде виноградных гроздей, например, у фузариумов.

Все типы рассмотренных спор относят к разряду бесполых, не связанных с половым процессом размножения. Половые споры возникают в результате слияния двух ядер, содержащих по гаплоидному набору хромосом (слияние гамет). Слившиеся гаметы формируют диплоид, который затем подвергается редукционному делению (мейоз) с последующим образованием гаплоидных клеток-спор. Способы полового размножения грибов (такие грибы называются совершенными) различны. Возникающие половые органы у низших грибов называют ооспорами и зигоспорами, у высших грибов — аскоспорами и базидиоспорами.

Все структуры вегетативного и репродукционного бесполого размножения грибов называют *анаморфами*, тогда как грибные структуры, образующиеся в результате полового процесса размножения, называют *телеоморфами*. Стадии телеоморфы и анаморфы характерны для всех грибов, кроме дейтеромицетов, или несовершенных грибов, которым присуща только вторая стадия.

22.3. СТРУКТУРА И ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ КЛЕТОК ГРИБОВ

Будучи эукариотическими организмами, грибы имеют сходное строение на клеточном уровне. Они содержат оформленное ядро, митохондрии, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи и его производные (первичные лизосомы, фагосомы, хитосомы и сегресомы). Сегресомы и хитосомы присущи только грибам. Сегресомы — вакуолеподобные структуры, ограничивающие поступление в клетку гидрофобных веществ, например, углеводородов. Хитосомы представляют собой органеллы, содержащие фермент хитинсинтетазу, необходимый для синтеза хитина. Все перечисленные органеллы отсутствуют у прокариотических микроорганизмов. Такие структуры, как рибосомы, клеточная мембрана и клеточная стенка (оболочка), капсулы и жгутики присущи прокариотам и эукариотам.

Число ядер в грибных клетках различное — от одного (у дрожжей-сахаромицетов) до десятков (у низших грибов из группы фикомицетов).

Зрелые клетки грибов могут быть одноклеточными (Hansenula) и многоклеточными (Penicillium). Многие виды проявляют так называемый *диморфизм*, т.е. способность расти в дрожжевой или мицелиальной форме в зависимости от окружающих условий. В инфицированных тканях они выявляются обычно в виде дрожжеподобных клеток, а при культивировании *in vitro* — в форме типичных плесневых микроорганизмов.

По химическому составу оболочка грибов существенно отличается от клеточной стенки бактерий. Она не содержат муреинового каркаса, вследствие чего не чувствительна к ферменту лизоциму. Обо-

лочка грибов представлена микрофибриллярным матриксом углеводной природы (гликаны). Маркерным полимером для большинства видов является хитин — полимер N-ацетилглюкозамина, синтезируемый ранее упомянутыми хитосомами.

В физиологическом отношении грибы имеют ряд признаков, которыми обладают животные организмы — гетеротрофный тип питания, потребность в витаминах, образование мочевины в процессе азотного обмена, синтез гликогена (а не крахмала) в качестве резервного гомогликана, наличие хитина.

Грибы — бесхлорофильные, гетеротрофные аэробные или факультативно-аэробные микроорганизмы. В симбиозе с цианобактериями или некоторыми одноклеточными зелеными водорослями образуют симбионты — *лишайники*.

Многие грибы растут на минимальных по составу ингредиентов питательных средах, включающих приемлемый органический источник углерода (например, олигосахара), источник азота в форме нитратов или аммонийных солей. Из витаминов они чаще используют водорастворимые биотин, рибофлавин, тиамин и некоторые другие.

По отношению к температуре грибы являются, как правило, мезофильными организмами, хотя имеются термофильные виды, растущие при 50°С и выше (Paecilomyces sp.).

Ферментативная активность грибов достаточно выражена. Они содержат ферменты всех классов. Некоторые из них, в частности, гидролазы являются факторами патогенности. Отдельные виды грибов образуют сильные токсины (афлатоксины, фаллотоксины, мускарин и др.). За счет ферментативной активности грибы могут быть одной из причин микробиологической коррозии различных сооружений, приборов, аппаратов.

22.4. КЛАССИФИКАЦИЯ И ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКОЗОВ

В зависимости от локализации поражений микозы подразделяют на четыре группы:

1) системные, или глубокие, микозы, характеризующиеся поражением внутренних органов с вовлечением в патологический процесс различных тканей (кокцидиоидоз, гистоплазмоз, криптококкоз, североамериканский и южноамериканский бластомикозы);

2) подкожные, или субкутанные, микозы, характеризующиеся поражением кожи, подкожной клетчатки, фасций и костей (споротрихоз, хромомикоз, мадуромикоз);

3) эпидермомикозы, характеризующиеся поражением эпидермиса, волос и ногтей (дерматомикозы);

4) поверхностные микозы, характеризующиеся поражением волос и поверхностного рогового слоя эпидермиса (кератомикоз, разноцветный лишай — малассезиоз, черный лишай — кладоспориоз, белая пьедра — трихоспороз и черная пьедра — пьедраиоз.

Возбудители глубоких и субкутанных микозов обычно обнаруживаются в почве. Входные ворота инфекции при разных микозах различны. Системные микозы развиваются после вдыхания спор возбудителя, а подкожные — после непосредственного попадания спор или мицелиальных фрагментов в кожную рану (например, царапину от колючки соответствующего кустарника).

Глубокие микозы напоминают хронические бактериальные инфекции, вызванные микобактериями или актиномицетами. Первичные поражения обычно затрагивают легкие и протекают в форме острых пневмоний. Хронические формы встречаются реже. Они медленно прогрессируют и характеризуются образованием нагноительных ран или гранулематозных поражений; иногда возникают легочные каверны и патологический процесс распространяется на плевру. Возбудители глубоких микозов могут распространяться гематогенным путем по всему организму, образуя метастатические абсцессы или гранулемы в любых органах и тканях.

При системных микозах, как правило, наблюдается аллергия с развитием ГЗТ. Однако эти заболевания неконтагиозны, т.е. не передаются от человека к человеку или от животного к человеку. До открытия антифунгальных полиеновых антибиотиков глубокие диссеминированные микозы заканчивались, как правило, смертью. Некоторые из возбудителей системных микозов относят к числу опасных (Coccidioides immitis, Histoplasma capsulatum) ввиду их высокой контагиозности. Кроме криптококкоза, другие глубокие микозы являются эндемическими инфекциями.

Субкутанные микозы чаще наблюдаются в сельских местностях и тропических регионах. Заболевание начинается незаметно и медленно прогрессирует с образованием подкожных абсцессов и гранулем, часто достигающих поверхности кожи, формируясь в виде хронических, изъязвляющихся дренирующих поражений. Инфекция может распространяться по лимфатическим путям и сопровождаться возникновением нагноительных, грануломатозных поражений в регионарных лимфатических узлах. Заболевание часто приводит к обезображиванию участков тела и нередко заканчивается летально, хотя диссеминация возбудителя во внутренние органы наблюдается редко.

Подкожные деструктивные абсцессы, распространяющиеся на мягкие ткани, фасции и костную ткань, называют мицетомами (мадуромикоз, или «мадурская нога», по названию местности Мадура в Индии, где впервые был описан данный микоз). Для них характерно образование свищей с гнойными выделениями. В последних (как и в

абсцессах) часто обнаруживаются гранулы или д р у з ы, представляющие собой части колоний соответствующих возбудителей. Подобные абсцессы могут быть вызваны также бактериями рода Nocardia, Actinomyces. В этих случаях говорят об актиномикотических мицетомах. Следовательно, за исключением споротрихоза, этиология субкутанных микозов множественная.

Механизмы патогенного действия возбудителей глубоких и подкожных микозов изучены недостаточно. По-видимому, они связаны с полисахаридами клеточной стенки артроспор и другими элементами грибов, а также с рядом гидролитических ферментов. Экзотоксины у них не обнаружены.

Э п и д е р м о м и к о з ы представляют собой хронические инфекции, редко протекающие в тяжелой форме. Возбудители чаще обитают на коже и ее придатках у млекопитающих. Единичные находятся в почве, и лишь один вид (Microsporum gypseum) относительно часто выделяют из почвы. Следовательно, дерматомицеты приближаются к категории облигатных паразитов человека и животных, передающихся при контакте здоровых лиц с больными или с кусочками пораженных волос и эпидермальными чешуйками. Воспалительные очаги на месте инфицирования в большинстве случаев носят локальный характер и не подвержены деструкции. У людей, страдающих эпидермомикозами, как правило, развивается ГЗТ. Заболевания бывают легкими и бессимптомными, возможны острые и хронические формы. Прогноз в нелеченных случаях не тяжелый.

П о в е р х н о с т н ы е м и к о з ы являются относительно редкими заболеваниями. Они характеризуются минимальными реакциями макроорганизма на возбудителя, локализующегося в ногтях, волосах или роговом слое эпидермиса.

О п п о р т у н и с т и ч е с к и е м и к о з ы — группа микозов, которые вызываются условно-патогенными грибами из родов Absidia, Aspergillus, Candida, Mucor, Penicillium и др. у иммунодефицитных лиц (*см. 24.2.2.7*).

22.5. ВОЗБУДИТЕЛИ СИСТЕМНЫХ, ИЛИ ГЛУБОКИХ, МИКОЗОВ

22.5.1. Возбудитель кокцидиоидоза

Возбудитель кокцидиоидоза (кокцидиоидомикоза) — Coccidioides immitis — почвенный гриб, проявляющий диморфизм. Характеризуется «грибовидными» разрастаниями кожи, кахексией и другими симптомами.

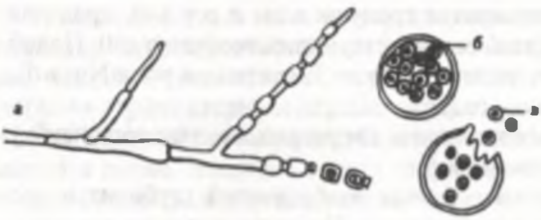


Рис. 22.5. Coccidioides immitis:
а — воздушный мицелий, распадающийся на артроспоры;
б — сферула;
в — эндоспора

Морфология. В культуре при комнатной температуре C. immitis растет в виде пушистых белых ватообразных колоний, имеющих субстратный и воздушный мицелий. Нити субстратного мицелия септированы, иногда с ракетообразными вздутиями, терминальными и интеркалярными хламидоспорами. В нитях воздушного мицелия образуются артроспоры, которые высоковирулентны. Попадая в организм, артроспоры трансформируются в круглые образования — с ф е р у л ы, которые имеют толстую оболочку, окружающую мелкие эндоспоры. Подобные сферулы — мегаталлоспоры образуются из мицелия в специальных условиях культивирования C. immitis (рис. 22.5). Половым путем не размножаются.

Культуральные и биохимические свойства. C. immitis растет при комнатной температуре на агаре Сабуро и многих других питательных средах. На глюкозном агаре Сабуро колонии гриба формируются быстро с обильным ватообразным воздушным мицелием. В это время образуются многочисленные артроспоры бочковидной и прямоугольной формы.

C. immitis ассимилирует (без ферментации до кислоты и газа) многие сахара. Источниками углерода могут быть также гликаны, липиды, органические кислоты, спирты. В качестве источников азота гриб использует белки, пептоны, аминокислоты, мочевину, соли аммония, нитраты. В витаминах или других факторах роста не нуждается. В мицелиальной фазе гриб продуцирует индуцибельный фермент эластазу. Аэроб.

Антигены. Антигенные свойства C. immitis слабо выражены. В иммунологических реакциях (РСК, иммунодиффузии) в качестве антигенов используют комплексные препараты кокцидиоидин-гликопротеин и сферулин, представляющие собой стерильные фильтраты бульонных культур C. immitis и сферул соответственно. Эти же препараты используют и для кожно-аллергических проб.

Патогенность. C. immitis высоко вирулентен только в зрелой мицелиальной (культуральной) форме. При этом одна жизнеспособная артроспора при аэрогенном заражении может вызвать заболевание. Вирулентность штаммов варьирует в широких пределах — больной человек не опасен для окружающих, если в патологическом ма

териале обнаруживаются только сферулы (тканевая фаза C. immitis). Клетки мицелия гриба встречаются лишь в мокроте людей, страдающих легочной кавернозной и грануломатозной формами кокцидиоидоза.

Патогенез. После аэрогенного заражения развивается первичная легочная инфекция, которая может протекать бессимптомно или с определенными признаками на фоне ГЗТ, появляющейся через 2–3 недели после начала заболевания. Кроме того, инфекция может протекать по типу острого респираторного заболевания. В последних случаях у 5–10% заболевших развиваются через 1–2 недели ГЗТ в форме узловатой или многоформной эритемы. Более чем у половины заболевших наблюдаются изменения в легких, в том числе образование тонкостенных полостей, постепенно исчезающих или сохраняющихся в течение длительного времени. Менее чем у 1% больных первичный кокцидиоидоз в течение года переходит в диссеминированную вторичную форму. Возбудитель распространяется гематогенным путем и локализуется в любом органе или ткани. Эта форма инфекции известна как *кокцидиоидная гранулома* и часто заканчивается смертельным исходом.

Иммунитет. Восприимчивость к кокцидиоидозу неодинаковая в зависимости от пола и расы (но не возраста). Первичный кокцидиоидоз с узловатой эритемой чаще встречается у женщин, чем у мужчин; напротив, мужчины более склонны к диссеминации первичного инфекционного заболевания, чем женщины. У представителей черной расы первичный кокцидиоидоз встречается в 10 раз чаще, чем у белых, и протекает в диссеминированной форме.

Ранним регистрируемым иммунным ответом при кокцидиоидозе является конверсия кожно-аллергических реакций из отрицательных в положительные. При хронических формах выявляются преципитины и комплементсвязывающие антитела (IgG и IgM), которые сохраняются в течение длительного срока. При диссеминированной форме заболевания титры комплементсвязывающих антител повышаются, что является плохим прогностическим признаком. Гиперчувствительность замедленного типа развивается вскоре (до 3 недель) после заражения. Позже индивидуум становится иммунным к экзогенной реинфекции.

Экология и эпидемиология. Кокцидиоидоз — заболевание эндемичное, характерное преимущественно для Северной Америки (юго-западные штаты США, некоторые районы Мексики), Центральной и Южной Америки. Гриб обитает в почве полузасушливых регионов, заселяя в основном периферию пустынных областей. Микроорганизм активно размножается после выпадения осадков зимой и следующего за ней долгого сухого лета. C.immitis устойчив к действию различных физико-химических факторов.

22.5.2. Возбудитель гистоплазмоза

Возбудитель — Histoplasma capsulatum — почвенный гриб, впервые обнаруженный в тканях умерших больных С.Т. Дарлингом в 1906 г. Ныне известны два варианта H. capsulatum — capsulatum и duboisii.

Морфология. H. capsulatum — диморфный гриб (рис. 22.6), растущий либо в дрожжевой, либо в мицелиальной фазе. На кровяном агаре и в тканевой культуре, почкуются на узком конце материнской клетки. На глюкозном агаре Сабуро при 25–30°С гриб развивается в мицелиальной фазе, формирующей микро- и макроконидии (рис. 22.6).

Культуральные и биохимические свойства. H. capsulatum хорошо растет на различных питательных средах, при pH 5,5–6,5.Строгий аэроб, нуждается в ряде витаминов группы В, утилизирует липиды, не разжижает желатин, не створаживает молоко, не гидролизует альбумин, восстанавливает нитраты в нитриты.

Антигены. Клетки H. capsulatum обладают слабыми антигенными свойствами, которые связаны с полисахаридным компонентом. Гистоплазмин — аллерген является гликопротеином. Его получают в виде фильтрата культуральной жидкости после роста гриба в мицелиальной фазе и используют для кожно-аллергических проб и серологических реакций.

Патогенность. Споры H. capsulatum вирулентны для человека и животных. Факторами патогенности гриба являются некоторые гидролазы и полисахариды клеточных стенок.

Патогенез. Конидии, попавшие в легкие через дыхательный тракт, захватываются альвеолярными макрофагами и при определенных условиях почкуются, а затем распространяются по всему организму. Заболевание чаще протекает бессимптомно. Небольшие воспалительные или гранулематозные очаги в легких и селезенке кальцифицируются. Более тяжелые случаи сопровождаются развитием пневмонии. При этом в легких образуются милиарные, множественные узелковые или паренхиматозные поражения, напоминающие туберкулезные очаги.

Тяжелый диссеминированный гистоплазмоз наблюдается в незначительном числе случаев, особенно у детей, стариков и лиц с иммунодефицитами, и часто заканчивается смертью.

Иммунитет. У людей, инфицированных H. capsulatum, развивается ГЗТ. При гистоплазмозе в сыворотке крови накапливаются антитела IgG и IgM. При прогрессирующем характере болезни обнаруживаются комплементсвязывающие антитела, которые перекрестно реагируют и с кокцидиоидином, и с бластомицином (см. *Бластомикозы*). Накопление комплементсвязывающих антител имеет прогностическое значение.

Экология и эпидемиология. Гистоплазмоз встречается повсеместно, хотя эндемический характер данного заболевания отмечается для

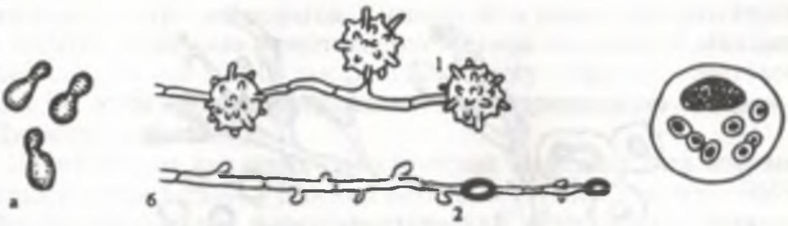


Рис. 22.6. Histoplasma capsulatum:
а — дрожжевые клетки; б — мицелий с макрокондиями (1) и микрокондиями (2); в — макрофаг с клетками H. capsulatum в дрожжевой форме

отдельных стран, например центральных и восточных штатов США. Возбудитель обитает в почве, особенно загрязненной птичьим пометом или испражнениями летучих мышей. Свежий помет и испражнения не содержат H. capsulatum, а только обогащают почву как среду обитания возбудителя.

Гриб довольно устойчив к факторам окружающей среды. Его споры в сухой почве могут сохраняться до 4 лет, а при нагревании до 45°C — в течение 30 мин. Описаны штаммы гриба, сохраняющие свою жизнеспособность в нагретом до 63°C молоке. Споры гриба сохраняются в течение 20 мес. при 4°C и до 2 мес. при 37°C. Растворы формалина (1:1000–2000) оказывают на них губительное действие.

22.5.3. Возбудитель криптококкоза

Возбудителем криптококкоза (синонимы: европейский бластомикоз, бластомикоз Буссе–Бушке, торулез) являются базидиомицетовые дрожжи Cryptococcus neoformans, впервые выявленные в персиковом соке Ф. Санфеличе (1894). В настоящее время описано более 20 видов и разновидностей криптококков, из которых лишь два варианта являются патогенными для человека — C. neoformans var. neoformans и C. neoformans var. gattii.

Морфология. Анаморфные криптококки являются дрожжевыми почкующимися клетками, образующими выраженную полисахаридную капсулу как в культуре, так и в тканях. Клетки гриба толстостенные, овальной или сферической формы, почкующиеся одиночно. Телеоморфа криптококка представляется несептированными булавовидными базидиями с расположенными в виде цепочек спорами. Такие базидии возникают на септированном мицелии с пряжками (рис. 22.7).

Культуральные и биохимические свойства. Патогенные криптококки — аэробы, растут на обычных питательных средах при комнатной температуре и, в отличие от непатогенных видов, при 37°C. На глюкозном агаре Сабуро при 20°C образует блестящие слизистые

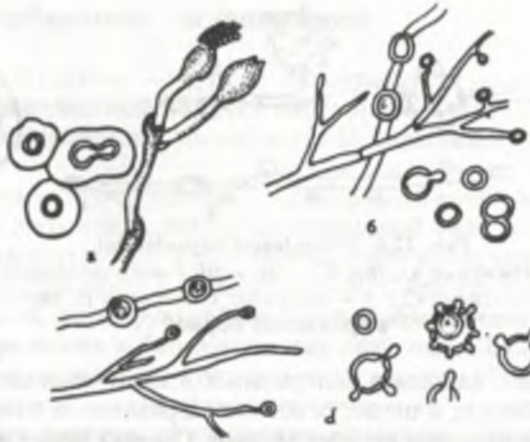


Рис. 22.7. Дрожжевые и мицелиальные формы:
а — Criptococcus neoformans; б — Blastomyces dermatitidis;
d — Paracoccidioides brasiliensis

колонии, буреющие с возрастом. Пигментация хорошо проявляется на агаризованной среде, содержащей экстракт семян репейника и глюкозу. На жидких средах с pH ниже 7,0 образует крахмалоподобный гликан и гетерополисахариды сложной структуры. Не ферментируют сахара, нуждаются в тиамине, образуют уреазу, не ассимилируют нитраты; в качестве источника углерода потребляют глюкозу, галактозу, мальтозу и сахарозу.

Антигены. Внутри вида C. neoformans различают 4 серовара: A, B, C и D. Сероварам A и D соответствует анаморфа C. neoformans var. neoformans, а сероварам B и C — анаморфа C. neoformans var. gattii. Серовар D оказался ближе к сероварам B и C, чем к серовару A.

Патогенность. Вирулентность криптококков в большей или меньшей степени связывают с капсульными полисахаридами, фенолоксидазой и другими ферментами, их быстрым ростом при 37°С, определенным тропизмом к ЦНС и др.

Патогенез. Заражение людей криптококками происходит аэрогенным путем с последующим развитием легочного криптококкоза. При распространении возбудителя гематогенным путем наблюдается поражение внутренних органов и ЦНС. Чаще всего криптококкоз протекает в виде маловыраженных легочных заболеваний. В отдельных случаях развивается тяжелый хронический криптококкоз с вовлечением в процесс мозга и мозговых оболочек, легких, других внутренних органов, костей и кожи. Нелеченные формы всегда заканчиваются смертельным исходом. Воспалительные реакции в тканях слабо выражены. В отдельных случаях отмечаются грануломатозные поражения с многоядерными гигантскими клетками. Возбудитель может

выявляться внутри макрофагов. С начала 80-х годов текущего столетия СПИД «разбудил» криптококкоз. Теперь на каждый миллион людей со СПИДом 50–100 тыс. или более могут страдать криптококкозом — этим «микозом будущего» (по определению Е. Друэ и Б. Дюпона (1988, 1999).

Криптококкоз как оппортунистическая инфекция был впервые диагностирован в США у больных СПИДом. Установлено, что у ВИЧ-инфицированных лиц оппортунистический криптококкоз является аэрогенной инфекцией. При этом он проходит в две стадии — первую (легочную) и вторую (гематогенную диссеминацию). Во многих случаях криптококкоз у больных СПИДом развивается в ассоциации с пневмоцистной пневмонией, кандидозом, вирусными или бактериальными инфекциями.

Иммунитет. Иммунитет к повторному заражению при криптококкозе отсутствует. В процессе инфекции образуются небольшие количества антител (IgG). Аллергия возникает редко.

Экология и эпидемиология. Патогенные криптококки обитают в почве, особенно обогащенной голубиным пометом. Их обнаруживают с различной частотой в разных регионах мира. Криптококки обнаруживают в насестах и гнездовьях голубей, на карнизах окон, башнях, городских строениях. Птицы высокоустойчивы к криптококковой инфекции в отличие от большинства лабораторных животных.

Криптококкоз возникает спорадически во всех частях земного шара. Однако его роль резко возросла в связи с пандемией СПИДа — около 10% больных СПИДом страдают криптококковым менингитом.

Наличие выраженной капсулы обеспечивает длительное выживание криптококков при изменяющихся внешних условиях и предохраняет их от губительного действия различных физических и химических факторов. Заболевание не передается от человека к человеку или от животного к человеку.

22.5.4. Возбудитель североамериканского бластомикоза (болезнь Джилкриста, чикагская болезнь)

Морфология. Возбудитель североамериканского бластомикоза — Blastomyces dermatitidis — диморфный гриб, открытый Т. Джилхристом, формирует тонкие боковые или терминальные конидиеносцы с одиночными овальными конидиями. Тканевая фаза представляется почкующимися клетками с двуконтурной клеточной стенкой. Каждая клетка имеет только одну почку, соединенную широкой основой с родительской (рис. 22.7б).

Культуральные свойства. B. dermatitidis растет на обычных питательных средах при комнатной температуре и при 37°С. На глюкозном агаре Сабуро при 20°С образует колонии с воздушным мицелием.

Мицелиальная форма может быть трансформирована в дрожжевую (тканевую) при пересеве на кровяной агар и выращивании при 37°С.

Антигены. Антигенные свойства клеток B. dermatitidis выражены слабо. Их эпитопами являются гликаны. Для дрожжевой фазы описаны антигены А и В. Аллерген — бластомицин получают в виде стерильного фильтрата культуральной жидкости после роста B. dermatitidis. Вопреки более ранним утверждениям показано, что ни кожные, ни серологические тесты не имеют прогностической ценности.

Патогенез. Бластомикоз является хроническим гранулематозным и нагноительным инфекционным заболеванием, проявляющимся в виде кожных и системных или диссеминированных инфекций. Первичные кожные поражения встречается относительно редко. Чаще заражение человека происходит аэрогенно и при последующем распространении возбудителя гематогенным путем поражаются внутренние органы и ткани. В процесс могут быть вовлечены кости, предстательная железа, придатки и яички. Легочный бластомикоз может симулировать туберкулез или опухоли. Североамериканский бластомикоз чаще встречается у мужчин.

Иммунитет. Сыворотка крови больных бластомикозом, как правило, содержит комплементсвязывающие антитела, реагирующие с клетками возбудителя в дрожжевой фазе и их растворимыми антигенами. Однако перекрестные РСК с гистоплазмином и кокцидиоидином снижают их диагностическую ценность. У больных часто развивается ГЗТ, которая выявляется в кожно-аллергических пробах с бластомицином. Однако эта проба недостаточно специфична из-за перекрестных реакций с упомянутыми выше аллергенами.

Экология и эпидемиология. Экология гриба изучена недостаточно. Патоген выделяется из почвы в единичных случаях. До недавнего времени считали, что бластомикоз встречается лишь на североамериканском континенте (отсюда и название микоза) в юго-восточных штатах, долине реки Миссисипи. Однако позднее это заболевание оказалось распространенным в Центральной Америке и Африке, Ближнем Востоке (Израиль, Ливан, Саудовская Аравия), в Индии и Мексике.

Устойчивость гриба к факторам окружающей среды сходна с таковой для других диморфных грибов, например H. capsulatum.

22.5.5. Возбудитель паракокцидиоидомикоза

Синонимы: южноамериканский бластомикоз, бразильский бластомикоз, паракокцидиоидная гранулома, болезнь Лютца–Сплендора–Альмейды, тропический грануломатозный бластомикоз.

Возбудитель — Paracoccidioides brasiliensis — почвенный диморфный гриб из группы дейтеромицетов.

Морфология. На глюкозном агаре Сабуро при комнатной температуре P. brasiliensis растет в виде септированного мицелия с интеркалярными и терминальными хламидоспорами, а также маленькими сесильными конидиями. В пораженных тканях и в культуре клетки имеют дрожжевую форму (10–60 мкм) с множественными почками («сателлитные клетки»).

Культуральные свойства. На глюкозном агаре Сабуро при 20°C гриб растет медленно, диаметр колоний достигает 2 см через 3 нед. Колонии вначале гладкие, позже формируется короткий воздушный мицелий

(от белого до буреющего цвета).

На кровяном агаре при 37°C медленно образуются колонии дрожжевого типа, гладкие или мозговидноскладчатые.

Антигены. Антигенные свойства P. brasiliensis изучены недостаточно.

Патогенез и иммунитет. P. brasiliensis вызывает хроническое грануломатозное заболевание, при котором поражаются слизистая оболочка полости рта, кожа лица, лимфоузлы, тонкий кишечник (при североамериканском бластомикозе кишечник никогда не поражается). Раньше всего в патологический процесс вовлекаются слизистые оболочки рта и носа, затем кожа лица. При вовлечении в процесс лимфоидной ткани тонкой кишки наблюдаются изъязвления и даже перфорации. Подкожные абсцессы могут открыться на поверхности кожи язвенными поражениями.

При паракокцидиоидомикозе, так же как и при других бластомикозах, развивается ГЗТ, которая определяется в кожных пробах с паракокцидиоидином.

Экология и эпидемиология. Гриб обитает в почвах стран Центральной и Латинской Америки.

Заболевают чаще сельские жители (главным образом мужчины) вследствие вредной привычки чистить зубы листьями и веточками, с которых конидии и мицелиальные фрагменты попадают на слизистую оболочку рта и дёсен. Часто встречаются перианальные поражения. Резистентность гриба к факторам окружающей среды изучена недостаточно.

22.5.6. Специфическая профилактика и химиотерапия системных микозов

Вакцинопрофилактика системных микозов практически не проводится в связи с низкой эффективностью вакцин. Для лечения широко используют полиеновые антибиотики (нистатин, амфотерицин В), тербинафин, 5-флуцитозин или 5-фторцитозин (анкотил), некоторые производные азолов (кетоконазол, миконазол, флуконазол и др.).

22.5.7. Лабораторная диагностика системных микозов

Патологический материал (мокрота, моча, пораженные ткани, биопсированные участки костного мозга, кожи или лимфатических узлов, спинномозговая жидкость и др.) вначале подвергают микроскопическому исследованию. Обнаружение малых овальных дрожжевых или других тканевых форм грибов позволяет поставить предварительный диагноз заболевания. Метод иммунофлюоресценции является эффективным способом обнаружения возбудителя в патологическом материале. В последние годы широко используют методы выявления грибных антигенов в тканях больных людей.

Микологическое исследование проводят путем посева патологического материала на кровяной агар и глюкозный агар Сабуро. В случаях первичной изоляции из патологического материала (или из других объектов — воздух, птичий помет, почва) патогенных криптококков используют дифференциально-диагностическую среду Штайба. Посевы инкубируют в течение нескольких недель при 37° и 20°С. Выделенные культуры идентифицируют на основании морфологических и биохимических признаков.

Серодиагностика. Антитела обнаруживаются в сыворотке крови через 2–4 недели после начала заболевания. При криптококкозе определяют антиген в спинномозговой жидкости и сыворотке крови в динамике заболевания. Из серологических реакций применяют РСК, реакции непрямой агглютинации с частицами латекса, нагруженными антигеном, реакции иммунодиффузии, иммуноэлектрофореза, все чаще прибегают к постановке полимеразной цепной реакции (ПЦР).

ГЗТ выявляют с помощью кожно-аллергических проб с соответствующими аллергенами — кокцидиоидином, гистоплазмином, бластомицином, паракокцидиоидином.

22.6. ВОЗБУДИТЕЛИ ПОДКОЖНЫХ (СУБКУТАННЫХ) МИКОЗОВ

22.6.1. Возбудитель споротрихоза

Заболевание вызывает Sporothrix schenckii — почвенный диморфный гриб из группы дейтеромицетов. Впервые выделен Б. Шенком в 1898 г.

Морфологические и культуральные свойства. Клетки S. schencki в экссудатах или тканях одноклеточные, округлые и веретенообразные. На глюкозном агаре Сабуро при комнатной температуре вырастают колонии, состоящие из тонкого септированного мицелия. Про-

стые, одноклеточные овальные конидии возникают в виде гроздей на верхушках конидиофор.

В посевах гноя или материала из кожных поражений на среду Сабуро культура растет достаточно быстро при 20°С в виде кожистых складчатых колоний от белых, бурых или коричневых до черных по цвету, что зависит от состава среды и особенностей штамма. Мицелиальная фаза гриба трансформируется в дрожжевую (тканевую) при интратестикулярном введении мицелиальных фрагментов белым мышам. Это позволяет дифференцировать S. schenckii от различных сапротрофов, морфологически сходных с возбудителем споротрихоза.

Антигены. Антигенная структура клеток изучена достаточно полно. Детерминантами антигенной специфичности являются гликаны, в частности полисахариды, состоящие из гликанов, галактоманнанов и рамноманнанов. Эти гликаны ковалентно связаны с пептидами.

Патогенность. S. schenckii достаточно вирулентен, хотя факторы патогенности возбудителя остаются неполностью изученными. В последние годы к ним относят протеиназы I и II, кислую фосфатазу дрожжевой фазы патогена.

Патогенез. Возбудитель проникает в организм через поврежденную кожу. На месте входных ворот инфекции образуется язва, а затем — узлы и абсцессы по ходу лимфатических путей. В редких случаях наблюдается диссеминация возбудителя в легкие, мягкие мозговые оболочки и внутренние органы. В настоящее время выделяют следующие клинические формы данного микоза: кожный, легочный, костно-суставной и другие формы гематогенно распространенного споротрихоза (с вовлечением или без вовлечения в патологический процесс легких и костей).

Иммунитет. У больных споротрихозом выявляются агглютинины, преципитины, комплементсвязывающие антитела. При этом IgG количественно преобладают над IgM и IgA. Высокая степень сенсибилизации макроорганизма отмечается уже на 5–1 день болезни (положительная кожно-аллергическая проба со споротрихином полисахаридной природы). Развивается ГЗТ.

Экология и эпидемиология. S. schenckii широко распространен в природе, но предпочтительнее — в умеренно теплых и тропических регионах, встречается на растениях, в почве. Организм устойчив во внешней среде. Находясь в угольной пыли и в почве различных шахт, может вызвать эпидемические вспышки среди шахтеров и золотодобытчиков. Случаи споротрихоза описаны во многих странах мира. Инфицированными могут быть крысы, собаки, мулы и лошади, от которых способны заразиться и люди, контактирующие с ними.

Лабораторная диагностика основана на данных микроскопии гноя и пораженных тканей, получения чистых культур возбудителя на

среде Сабуро при 20° и 30°С, а также серологических реакций агглютинации, непрямой агглютинации с частицами латекса, преципитации, РСК, иммунофлюоресценции и др., имеющих вспомогательное значение.

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая профилактика должна быть нацелена на предупреждение травматизма среди сельскохозяйственных рабочих, лиц, занятых в деревообрабатывающей промышленности, садоводов, шахтеров и др. Из химиотерапевтических средств с большим или меньшим успехом используют при разных клинических формах микоза амфотерицин В, йодид калия, некоторые азолы (итраконазол, кетоконазол).

22.6.2. Возбудители хромобластомикоза

Синонимы: хромомикоз, бородавчатый дерматит, болезнь Педрозо).

Возбудители хромобластомикоза — Fonsecaca pedrosai и др. — медленно растущие диморфные грибы, относящиеся к дейтеромицетам. Впервые описаны в 1915 г. К. Лейном, Е. Медларом, а позже и другими авторами.

Морфологические и культуральные свойства. В экссудатах и тканях грибы образуют темно-коричневые толстостенные округлые клетки, делящиеся с образованием перегородки. Если деление происходит в разных плоскостях с задержкой отчленения клеток, то возникают грозди из 4–8 клеток. В поверхностных слоях гноя клетки могут прорастать с образованием коричневых ветвящихся гиф.

На агаре Сабуро через 5–12 дней вырастают колонии оливково-серого или коричневого (до черного) цвета. Поверхность их пушистая, прикрывающая черный, густо переплетенный септированный мицелий. Возбудители хромобластомикоза отличаются друг от друга конидиальным плодоношением, а описанный в 1982 г. Г.С. де Xoorom и К. Рубио Botryomyces caespitosus не образует гиф, и его колонии целиком состоят из групп субовальных, толстостенных, темно-коричневых клеток, септированных в двух различных плоскостях.

Антигены. Антигенные свойства мало изучены.

Патогенез и иммунитет. Входными воротами инфекции являются микротравмы на ступнях, голенях, реже — на верхних конечностях, шее и других частях тела. Поражаются преимущественно сельские жители. Грибы вызывают бородавчатоподобные разрастания, которые формируются в течение многих месяцев или лет. Они распространяются по ходу лимфатических путей, образуя абсцедирующие узлы. Диссеминация возбудителя во внутренние органы происходит редко.

В течение заболевания в сыворотке крови могут появиться преципитины, комплементсвязывающие антитела (IgG), в ряде случаев развивается ГЗТ. Заболевание не передается от человека к человеку.

Экология и эпидемиология. Возбудители хромобластомикоза широко распространены в природе. Они обитают в почве и на растениях, будучи хорошо приспособленными к существованию на различных растительных остатках (солома, листья, гнилое дерево и т.д.). Погибают при нагревании до 50°С через 15–60 мин., а при воздействии антисептиков — в течение 20–30 мин.

Лабораторная диагностика. Основывается на микроскопии патологического материала, обработанного 10% раствором КОН, и обнаружении темных круглых или овальных клеток гриба, а также на получении чистых культур с характерным плодоношением на агаре Сабуро при 20°С. Патогенные виды отличаются от сапротрофных черных плесеней отсутствием способности разжижать желатин.

Специфическая профилактика отсутствует. Из химиотерапевтических средств с успехом применяют 5-флуцитозин (анкотил), амфотерицин В, итраконазол (орунгал).

22.6.3. Возбудители мицетомы

Синонимы: мадуромикоз, «мадурская нога».

Возбудителями мицетомы являются грибы или актиномицеты и другие бактерии. Грибные мицетомы, или эумицетомы вызываются многими видами, относящимися к различным родам: Acremonium, Aspergillus, Corynespora, Petriellidium, и др.

Бактериальные мицетомы, или бактериомицетомы индуцируются актиномицетами, нокардиями, стафилококками, стрептококками, кишечной палочкой, протеем, синегнойной палочкой.

Все формы мицетом характеризуются безболезненностью процесса в месте внедрения патогена в подкожную ткань. В инфицированной ткани образуются зерна (гранулы), состоящие из тесно примыкающих клеток возбудителя. Инфекция распространяется в прилегающие ткани, включая кости образованием гнойных дренирующих синусов.

Морфологические и культуральные свойства. В гное обнаруживаются белые, желтые, красные или черные зерна (друзы), состоящие из переплетенных септированных нитей. В актиномикотических зернах обнаруживают только тонкие филаменты.

Грибы относительно хорошо растут на агаре Сабуро при 20°С. Черный пигмент хорошо выявляется с обратной стороны колоний.

Одиночные конидии у P. boydii образуются из верхушек конидиеносцев: темные тонкостенные клейстотеции содержат круглые суммы с эллиптическими коричневыми аскоспорами. Другие виды гри-

бов различаются между собой по микроскопическому строению и культуральным признакам.

Антигены. Антигенные свойства культур изучены недостаточно. Антигенными детерминантами клеток являются полисахариды.

Патогенез и иммунитет. Возбудитель проникает в организм через травматические повреждения, где начинает медленно развиваться. При этом наблюдается образование папул, глубинных узлов или абсцессов, которые при разрыве превращаются во множественные дренирующие синусы. С распространением инфекции до фасций, мышц и костей, а также развитием фиброзной ткани, пораженная стопа утолщается и заметно деформируется. При заболевании образуются антитела IgG и развивается ГЗТ.

Экология и эпидемиология. Возбудители мицетомы широко распространены в природе (в почве, на различных растениях). Вызываемые ими заболевания зарегистрированы во многих странах, но наиболее часто встречаются в Судане, Индии и других тропических и субтропических регионах. Грибы достаточно устойчивы к воздействию различных внешних факторов.

Лабораторная диагностика. Основывается на данных микроскопии и культуральных исследований. Без выявления зерен диагноз «мицетома» поставить нельзя.

Специфическая профилактика отсутствует. Из химиотерапевтических средств рекомендуют комбинацию 5-флуцитозина (анкотила) с амфотерицином В, азолы — при эумицетоме; антибактериальные средства (сульфаниламиды, дапсон, аминогликозидные антибиотики) — при бактериальных мицетомах.

22.6.4. Возбудители эпидермомикозов (дерматомикозов)

Возбудители эпидермомикозов являются анаморфы (структуры бесполого размножения) 40 близкородственных видов из трех родов: Epidermophyton (2 вида), Microsporum (16 видов), Trichophyton (24 вида); их телеоморфы (структуры полового размножения) включены в один род Arthroderma. В 1839 г. Ю. Шенляйн впервые описал фавус (паршу) как грибковое заболевание. В 1845 г. Р. Ремак назвал этот гриб *Achorion schoenleinii*. Позже были открыты другие возбудители эпидермомикозов. Дерматомицеты не относятся к диморфным грибам. Их дифференциация основывается преимущественно на морфологических и культуральных признаках.

Морфологические и культуральные свойства. Дерматомицеты образуют септированный мицелий со спиралями, ракетовидными вздутиями, артроспорами, хламидоспорами, макро- и микроконидиями. Они подвергаются плеоморфным изменениям в лабораторных условиях, когда теряют способность к пигментообразованию и формиро-

ванию конидий. Виды различают по пигментации и форме колоний. Дерматомицеты хорошо растут на глюкозном агаре Сабуро.

Для трихофитонов характерны зернистые или мучнистые колонии с обильными микроконидиями, располагающимися гроздьями на терминальных гифах.

Микроспорумы образуют толстостенные или тонкостенные макроконидии, состоящие из 8–15 (M. canis) или 4–6 (M. gypseum) клеток. Их колонии окрашены в желто-оранжевый цвет. При ультрафиолетовом облучении пораженных микроспорумами волос наблюдается флюоресценция светло-зеленым цветом.

Эпидермофитонам присущи 1–5-клеточные булавовидные конидии.

Антигены. Все дерматомицеты — слабые антигены. Гликопротеины клеточных стенок этих грибов являются аллергенами, причем углеводная часть аллергена обусловливает развитие ГНТ, а белковая часть — ГЗТ.

Патогенез и иммунитет. Возбудители эпидермомикозов поражают эпидермис, волосы, ногти вследствие прямого контакта здорового человека с зараженными чешуйками или волосами больного. Гифы грибов затем прорастают в роговой слой, вызывая разнообразные по клиническому проявлению и локализации заболевания. Отдельные случаи заболеваний связаны с контактом людей (особенно детей) с больными собаками и кошками. В редких случаях могут развиваться генерализованные формы эпидермомикозов с поражением обширных областей кожи туловища и головы, с вовлечением лимфатических узлов.

При эпидермомикозах наблюдается развитие гиперчувствительности немедленного (ГНТ) и замедленного типов (ГЗТ).

Экология и эпидемиология. Большинство дерматомицетов широко распространено в природе. Одни виды обнаруживаются в почве и никогда не вызывают заболеваний у человека, другие патогенны для людей. Более десятка видов антропофильных дерматомицетов (T. rubrum, T. tonsurans и др.) передаются от человека к человеку; другие — зоофильные дерматомицеты (M. canis, T. verrucocum), патогенные для домашних и диких животных, передаются человеку; третьи — геофильные дерматомицеты (M. gypseum, M. fulvum), обитают в почве, но также способны поражать человека.

Дерматомицеты достаточно устойчивы к воздействию факторов окружающей среды. Некоторые виды встречаются главным образом в определенных географических регионах.

Лабораторная диагностика. Патологический материал (чешуйки кожи, ногтей, волосы, извлеченные из пораженных мест) микроскопируют, предварительно размягчив их в 10–20% растворе КОН. Microsporum образует тесные пласты спор в мозаичном

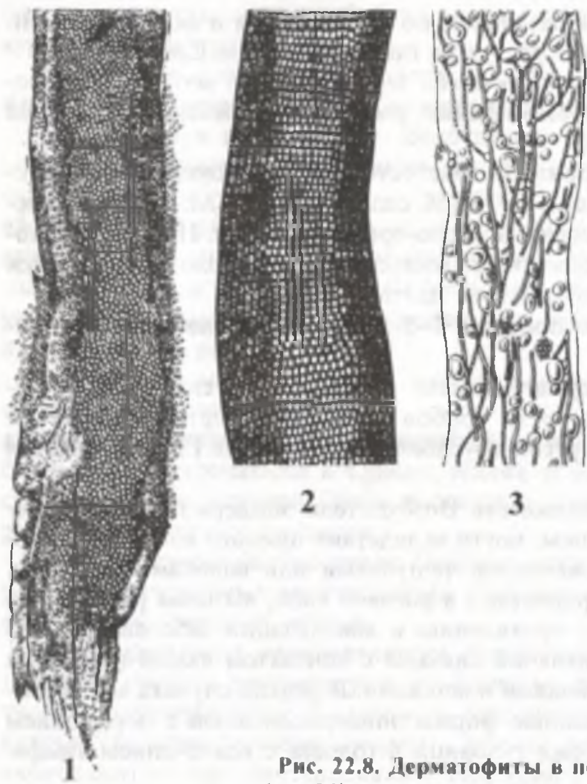


Рис. 22.8. Дерматофиты в пораженном волосе:
1 — Microsporum; 2 — Trichophyton; 3 — Achorion

порядке вокруг волос, тогда как Trichophyton — параллельные ряды спор (рис. 22.8), снаружи (эктотрикс) и внутри (эндотрикс) пораженных волос.

К дерматомицетам группы эктотрикс относят Microsporum audouinii, M.canis, M.gypseum и др.; к группе эндотрикс — T. gourvilii, T. tonsurans и др. Одни из них не образуют конидий в волосе, другие редко проникают в волосы, третьи волосы не инвазируют.

Волосы, инфицированные Microsporum, флюоресцируют при ультрафиолетовом облучении. Окончательная идентификация дерматомицетов проводится на основании изучения культур, выращенных в течение 1–3 недель на среде Сабуро при 20°С, по морфологическим особенностям мицелия и спор. Для идентификации дерматомицетов с освобождением их от контаминирующих грибов и бактерий используют специальную питательную среду — DTM, которая нашла широкое применение в клинических лабораториях.

Специфическая профилактика отсутствует. Из химиотерапевтических средств рекомендуют гризеофульвин, некоторые производные

азолов (амиказол, клотримазол и др.), ламизил, нитрофунгин, октицил, микосептин, аморолфин (производное морфолина) и др.

22.7. ВОЗБУДИТЕЛИ ПОВЕРХНОСТНЫХ МИКОЗОВ

22.7.1. Возбудители кератомикоза (микотического кератита)

Кератомикоз — заболевание, развивающееся вследствие экзогенной инвазии гриба через эпителий роговицы глаза в ее строму, вследствие небольшой травмы.

Виды, вызывающие кератомикоз, весьма разнообразны. Однако клинические проявления микотического кератита предсказуемы и сходны, независимо от патогена. В число возбудителей включено около 70 видов, относящихся к родам Aspergillus, Blastomyces, Candida, Cryptococcus, Fusarium, Penicillinum, Trichophyton и др.

Возбудители системных микозов обычно вызывают эндофтальмиты, а не кератиты.

Морфологические и культуральные свойства. Перечисленные выше грибы — возможные возбудители кератомикоза — подробно описаны в различных определителях микромицетов.

Выделение возбудителей из патологического материала проводят на среде Сабуро с гентамицином или левомицетином для ингибирования роста бактерий. Питательные среды с циклогексимидом не применяют из-за чувствительности к нему многих кератит-индуцирующих грибов. Посевы инкубируют при температуре 25–30°С до двух недель.

Патогенез. Человек всегда чувствует повреждение роговицы, хотя может и не знать истинную причину процесса. Обычно через несколько дней боль в глазу становится выраженной и наступает фотофобия, глаз воспаляется и формируется язва роговицы. В язве и вокруг нее образуется плотный инфильтрат, захватывающий строму роговицы. Грибные нити проникают внутрь стромы. В процесс может вовлекаться передняя камера глаза. Заболевание прогрессирует до перфорации роговицы и потери глаза, если не прибегнуть к соответствующим лечебным мерам.

Экология и эпидемиология. Кератомикоз преимущественно выявляется среди сельскохозяйственных работников — мужчин с травмированной роговицей, чаще в летний и ранний осенний периоды.

Большинство грибов, вызывающих кератит, обитает главным образом в почве, в разлагающихся растениях. Иногда возбудитель попа-

дает в глаз с контактными линзами. Немаловажную роль играют при этом отдельные вирусы, например, простого герпеса, вызывающие mixt-инфекцию.

Лабораторная диагностика — микроскопическая и культуральная, в редких случаях делают биопсию роговицы для выделения патогена.

Химиотерапия. Местно применяют антифунгальные средства в виде глазных капель: каждый час в течение 2–3 сут., затем через каждые 2 ч до наступления улучшения, и после — каждые 4 ч в течение длительного времени. С определенным успехом применяют кетоконазол перорально (5–8 мг/кг в день), итраконазол внутрь (200 мг/день).

22.7.2. Возбудитель разноцветного лишая (малассезиоза)

Malassezia furfur поражает роговой слой кожи, где обнаруживается в виде гроздей круглых толстостенных почкующихся клеток и коротких изогнутых гиф. Отмечается шелушение в виде тонких коричневых чешуек. Поражаются главным образом грудь, спина, живот, шея, плечи, реже кожа головы (образование перхоти). При этом появляется пигментация в виде коричневато-красных пятен, что имеет косметическое значение.

22.7.3. Возбудитель черного лишая

Возбудитель черного лишая (кладоспориоза) — Exophiala werneckii — локализуется в роговом слое ладоней и подошв, где появляются коричневые пятна. Они заполнены коричневатыми ветвистыми септированными гифами и почкующимися клетками возбудителя.

22.7.4. Возбудитель белой пьедры

Возбудитель белой пьедры (трихоспороза) — базидиомицет — Trichosporon beigelii — локализуется в чешуйках и волосах бороды, в которых появляются узелки, состоящие из гиф и овальных артроспор. На агаре Сабуро гриб растет в виде мягких кремовых колоний.

22.7.5. Возбудитель черной пьедры

Возбудитель черной пьедры (пьедраиоза) — аскомицет — Piedraia hortae — образует плотные черные узелки на волосах голо-

вы. На агаре Сабуро дает рост в виде зеленовато-черного мицелия с хламидоспорами. Инфекция чаще встречается в странах с тропическим климатом.

Условно-патогенные грибы и вызываемые ими оппортунистические микозы изложены в главе 24.

Вопросы для самоконтроля

1. Какие основные морфологические элементы присущи патогенным грибам?
2. В чем состоят различия между патогенными грибами и патогенными бактериями и другими микроорганизмами?
3. Дайте классификацию и общую характеристику заболеваний, вызываемых патогенными грибами.
4. Какие заболевания относят к оппортунистическим микозам и какие из них осложняют СПИД?
5. Каковы основные принципы лабораторной диагностики микозов?
6. Какие химиотерапевтические препараты применяют для лечения больных, страдающих различными микозами?

ГЛАВА 23
МЕДИЦИНСКАЯ ПРОТОЗООЛОГИЯ

Медицинская протозоология является одним из разделов паразитологии, который рассматривается на кафедре общей биологии и подробно изложен в соответствующих учебниках. В курсе медицинской микробиологии основное внимание будет уделено патогенным простейшим, некоторым иммунологическим и эпидемиологическим особенностям вызываемых ими инфекций, их специфической профилактике и химиотерапии. Патогенетические особенности вызываемых ими заболеваний связаны с цикличностью развития возбудителя в организме основного или промежуточного хозяина.

Как известно, патогенные простейшие являются эукариотическими одноклеточными микроорганизмами, которые по структуре своих клеток весьма близки к клеткам животных, вследствие чего они принципиально отличаются от патогенных прокариот.

Простейшие относятся к царству Protozoa подцарству Animalia, которое включает 7 типов. Представители трех из них Sarcomastigophora, Apicomplexa, Ciliophora вызывают заболевания у человека[1]. К патогенным простейшим — возбудителям заболеваний человека — относятся дизентерийная амеба, лямблии, трихомонады, лейшмании, трипаносомы, плазмодии малярии, токсоплазма, балантидии.

Многие из этих микроорганизмов были открыты еще во второй половине XIX в. и довольно хорошо изучены. Это прежде всего касается морфологии и структуры. Однако некоторые вопросы, связанные с генетикой, антигенной структурой и ее изменчивостью, иммунологией вызываемых ими заболеваний и др., оставались мало разработанными. Это также относится к проблеме факторов патогенности, специфической профилактики и поискам новых химиотерапевтических препаратов.

Простейшие широко распространены на нашей планете. Они заселяют моря и океаны, пресные воды, почву, организмы животных и растений. Некоторые из них являются паразитами человека.

---

[1] Болезни, вызываемые паразитическими простейшими и гельминтами, поражают сотни миллионов людей.

Клетки простейших покрыты плотной эластичной мембраной — пелликулой, образуемой периферическим слоем цитоплазмы. Некоторые из них снабжены опорными фибриллами и минеральным скелетом, отсутствующими у бактерий. Цитоплазма простейших содержит компактное ядро или несколько ядер, окруженных мембраной, ядерный сок (кариолимфа), хромосомы и ядрышки, а также структуры, свойственные клеткам многоклеточных животных организмов: эндоплазматической ретикулум, рибосомы, митохондрии, аппарат Гольджи, лизосомы, различные типы вакуолей и др.

Многие простейшие способны активно перемещаться в пространстве посредством временных псевдоподий или постоянно существующих органелл (жгутики и реснички).

Большинство из них обладает гетеротрофным типом метаболизма. У просто организованных форм захват пищи происходит посредством фагоцитоза. Простейшие с более сложной морфологией имеют специальные структуры, позволяющие поглощать пищу. Дыхание осуществляется всей поверхностью клетки.

Особенности иммунитета, формирующегося при протозойных инфекциях, изложены в главе 17.4.

23.1. ДИЗЕНТЕРИЙНАЯ АМЕБА

Тип Sarcomastigophora, подтип Sarcodina, класс Lobosea, отряд Amoebida.

Дизентерийная амеба Entamoeba histolytica открыта Ф.А. Лешем в 1875 г. Она является обитателем толстой кишки человека и в своем развитии (жизненный цикл) проходит две стадии — вегетативную и стадию покоя. К 1-й относятся 3 морфологически различающиеся формы: большая вегетативная (форма magna), просветная (форма minuta) и предцистная формы. Отдельные стадии переходят одна в другую в зависимости от условий существования в организме хозяина.

Морфология, физиология. Большая вегетативная форма (рис. 23.1) имеет относительно крупные размеры (20–50 мкм) и обнаруживается с патологическими примесями (кровь, слизь) в нативных препаратах из свежих фекалий больного острым амебиазом. Этой форме свойственно активное и быстрое перемещение посредством эктоплазматических псевдоподий. В ее эндоплазме могут наблюдаться фагоцитированные эритроциты хозяина.

П р о с в е т н а я ф о р м а амебы (см. рис. 23.1 — (2), (3)) обитает в просвете толстой кишки и выявляется в фекалиях выздоравливающих больных, а также больных с хроническим течением болезни. Она передвигается медленнее, чем тканевая и вегетативная формы. В цитоплазме выявляются фагоцитированные детрит и бактерии.

Рис. 23.1. Entamoeba histolytica. Объяснения в тексте

П р е д ц и с т н а я ф о р м а дизентерийной амебы встречается в испражнениях реконвалесцентов, а также у бессимптомных носителей. Она отличается от других вегетативных форм наиболее медленными движениями.

Ц и с т а (см. рис. 23.1 — (4), (5), (6)) имеет округлую форму. Она окружена двухконтурной оболочкой и содержит одно или несколько ядер. Цисты хорошо сохраняются во внешней среде.

Дизентерийная амеба хорошо культивируется на искусственных питательных средах (среда Павловой, Даймонда и др.).

Патогенез и иммунитет. Различные штаммы амеб неодинаковы по своей вирулентности для человека, от которой зависит патогенез заболевания.

При попадании в тонкую кишку человека оболочка цисты разрушается и из нее выходит четырехъядерная материнская клетка амебы. После деления образуется 8 одноядерных паразитов, которые превращаются в вегетативные формы, заселяющие толстую кишку хозяина.

Механизм проникновения амеб в стенку кишки связан с выделением ими протеолитических ферментов. Паразиты разрушают эпителий кишки, что сопровождается некрозом и образованием язв. В основном процесс локализуется в слепой и восходящей кишках, но часто поражаются прямая и сигмовидная кишка. В тяжелых случаях углубление язв до мышечной и серозной оболочек кишки вызывает перфорацию кишечной стенки и развитие перитонита. Возможен длительный, хронически протекающий амебиаз, при котором возникают амебомы — опухолевые образования в стенке толстой кишки.

При проникновении паразитов в кровяное русло происходит гематогенная диссеминация амеб. Чаще всего при этом поражается печень, но иногда патологические процессы развиваются в легких, коже, головном мозге и других органах. Внедрение паразитов в ткани кишечника и размножение тканевых форм происходит при иммунодефицитных состояниях, а также при дисбактериозе кишечника, когда амебы испытывают недостаток в обычном для них объекте питания — бактериях толстой кишки.

Иммунитет при амебиазе пока изучен недостаточно. Однако имеются данные о наличии индивидуальной невосприимчивости к дизентерийной амебе у отдельных лиц.

Экология и эпидемиология. Амебная дизентерия — типичный антропоноз, при котором человек является источником инфекции, заражающим цистами амеб окружающую среду. Особое значение при этом имеет бессимптомное носительство паразитов, а также наличие хронических больных, длительно выделяющих цисты амеб в окружающую среду.

Основной механизм передачи инфекции — фекально-оральный.

Амебиаз встречается во всех странах мира, но наибольшая заболеваемость отмечается в условиях тропического и субтропического климата.

Некоторые виды свободноживущих амеб из родов Naegleria и Acanthamoeba являются факультативными паразитами человека и вызывают первичный амебный менингоэнцефалит. Заражение человека происходит главным образом во время купания в водоемах, заселенных амебами, или при вдыхании пыли с цистами этих простейших. Выявлена возможность носительства амеб в носоглотке человека. Заболеваемость спорадическая. Летальность превышает 90%. Из стран ближнего зарубежья амебиаз выявляется главным образом в республиках Средней Азии и Закавказья, где его удельный вес среди кишечных инфекций сравнительно невысок (5–10%).

Все вегетативные формы амебы погибают вне организма хозяина в течение 20–30 мин. В противоположность этому цисты хорошо сохраняются во внешней среде и именно им принадлежит основная роль в заражении человека.

Лабораторная диагностика. Проводится микроскопическое исследование нативных препаратов из пораженных тканей, а также из испражнений больного при остром амебиазе.

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика не разработана.

Химиотерапевтическими препаратами универсального действия при всех формах амебиаза являются метронидазол и фурамид. Для лечения применяют также ятрен, дийодохим, эметин, амбильгар, делагил.

23.2. ЛЯМБЛИИ

Тип Sarcomastigophora, подтип Mastigophora, класс Zoomastigophorea, отряд Diplomonadida.

Возбудитель лямблиоза Lamblia intestinalis был открыт Д. Лямблем в 1859 г. Он относится к роду Lamblia, включающему более 100 видов, паразитирующих в организме многих позвоночных и некоторых беспозвоночных. Специфическим паразитом человека является L. intestinalis, обитающий в верхних отделах тонкого кишечника.

Морфология, физиология. Длина паразита составляет приблизительно 15 мкм, ширина в его передней части 7–8 мкм. Форма клетки грушевидная, заостренная к заднему концу (рис. 23.2). В ее передней части имеется присасывательный диск, при помощи которого лямблии плотно прикрепляются к эпителиальным клеткам тонкой кишки.

В нижних отделах кишечника человека вегетативные стадии лямблии могут переходить в стадию цисты.

Лямблии культивируются на питательных средах, содержащих экстракты дрожжеподобных грибов.

Патогенез и иммунитет. Связь лямблий с позвоночным хозяином является видоспецифической. В частности, лямблии кроликов или мышей не могут существовать в кишечнике человека.

Вопрос о патогенности лямблий до сих пор не решен. Умеренная инвазия тонкого кишечника обычно не вызывает болезненных симптомов. Однако часто более выраженное заражение этими паразитами приводит к тяжелым кишечным расстройствам. Проникая через желчный проток из двенадцатиперстной кишки в желчный пузырь, лямблии могут явиться причиной хронического холецистита. Описанные патологические явления обычно проявляются при массивном заражении лямблиями лиц с ослабленной сопротивляемостью организма. У детей они наблюдаются чаще, чем у взрослых.

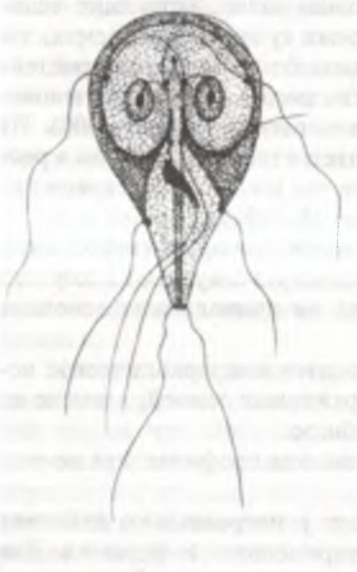


Рис. 23.2. Строение лямблии (схема)

Иммунитет при лямблиозе практически не изучен.

Эпидемиология. Источником инфекции являются не только больные люди, но и здоровые носители. Заражение происходит так же, как и при других кишечных инфекциях.

Цисты лямблий сохраняют свою жизнеспособность во внешней среде довольно длительное время.

Лабораторная диагностика проводится путем микроскопического исследования нативных и обработанных раствором Люголя препаратов, приготовленных из испражнений и дуоденального содержимого.

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика отсутствует.

В качестве химиотерапевтических препаратов применяется акрихин и аминохинол.

23.3. ТРИХОМОНАДЫ

Тип Sarcomastigophora, подтип Mastigophora, класс Zoomastigophorea, отряд Trichomonadida.

Трихомонады относятся к роду Trochomonas Davaine, который включает большое количество видов, паразитирующих в организме различных позвоночных. Паразитами человека являются представители 3 видов (рис. 23.3): Trichomonas hominis, обитающий в кишечном тракте, T. tenax (T. clongata) — паразит полости рта и T. vaginalis (Donne) — паразит урогенитального тракта. Последний вид имеет наибольшее значение в патологии человека.

Морфология, физиология. Клетки паразитов имеют грушевидную форму, длина их составляет 7–20 мкм (T. hominis и T. tenax) и 20–36 мкм (T. vaginalis). На переднем конце расположены 4 жгутика, отходящих от базальных зерен. Через всю цитоплазму, от области базальных зерен до конца клетки, проходит опорная эластичная нить (аксостиль). Ядро сферической формы расположено в передней части клетки. У основания имеется щелевидное углубление («жгутиковый карман»), через которое происходит захват пищи (бактерий) посредством фагоцитоза, возможно осмотическое питание. В цитоплазме иногда видны пищевые вакуоли, содержащие бактерии.

Отдельные виды трихомонад отличаются также друг от друга строением ундулирующей мембраны. Размножаются трихомонады агамно, продольным делением.

Трихомонады — подвижные организмы, быстро перемещающиеся при помощи жгутиков и ундулирующей мембраны. Стадия цисты отсутствует.

Трихомонады хорошо растут на питательных средах в присутствии бактерий, которыми питаются. Разработаны среды для выращивания безбактериальных культур трихомонад, что позволило изучить антигенные свойства и вирулентность различных штаммов. Отдельные виды трихомонад различаются серологически.

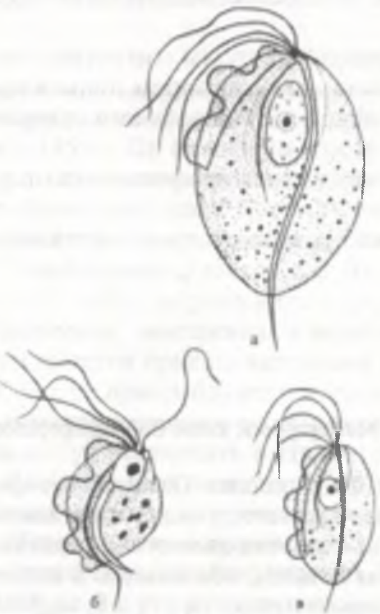


Рис. 23.3. Трихомонады человека (схема):
а — влагалищная;
б — кишечная; в — ротовая

Патогенез и иммунитет. T. vaginalis играет важную роль в патологии мочеполовой системы женщин и мужчин. У женщин паразит вызывает воспалительный процесс во влагалище, шейке матки, уретре и других органах (трихомоноз), у мужчин — уретрит и поражение предстательной железы. Нередко отмечается бессимптомное носительство паразита.

T. hominis обитает в толстой кишке человека, где иногда интенсивно размножается. Полагают, что при массивном заражении этим паразитом у ослабленных больных и детей ухудшается течение предшествующих заболеваний толстой кишки. В целом патогенное значение этого вида, так же как и T. tenax, проблематично.

Повторные заболевания трихомонозом свидетельствуют об отсутствии иммунитета.

Эпидемиология. Трихомоноз человека, вызванный T. vaginalis, передается преимущественно половым путем, т.е. является венерическим заболеванием. В редких случаях (при антисанитарных условиях) заражение происходит через постельное белье. Во внешней среде паразиты быстро погибают, а в моче больного сохраняются до 24 ч.

Лабораторная диагностика проводится путем микроскопического исследования мазков из влагалища, шейки матки и уретры. При этом просматриваются как свежие нативные препараты, в которых хорошо видны подвижные паразиты, так и фиксированные мазки, окрашенные краской Романовского–Гимза.

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика отсутствует.

Для лечения больных и носителей трихомонад применяют осарсол, аминарсон, фуразолидон и другие химиотерапевтические препараты.

23.4. ЛЕЙШМАНИИ

Тип Sarcomastigophora, подтип Mastigophora, класс Zoomastigophorea, отряд Kinetoplastida, семейство Trypanosomatidae.

Лейшмании относятся к роду Leishmania Ross. Род включает около 20 видов и подвидов, которые являются паразитами млекопитающих и рептилий.

Среди лейшманий, паразитирующих у человека, наибольшее значение имеют: Leishmania tropica (Wright), L. major (Yak), L. aethiopica (Bray) — возбудители кожных лейшманиозов Старого Света, L. braziliensis (Vianna) и L. mexicana (Lainson et Shaw) — возбудители кожных и кожно-слизистых лейшманиозов Нового Света, L. donovani (Laveren et Mesnil и L. infantum (Nicolle) — возбудители висцеральных лейшманиозов.

Лейшмании характеризуются гетероксеническим паразитическим развитием, в течение которого они проходят стадию промастиготы — (подвижная жгутиковая форма) в беспозвоночном хозяине и амастиготы (неподвижная безжгутиковая форма) — в позвоночном хозяине.

Морфология, физиология. Амастиготы лейшманий представляют собой круглые или овальные тельца длиной 2–5 мкм с четкой цитоплазматической мембраной, ядром, кинетопластом.

Промастиготы имеют веретенообразную форму клетки с ядром и кинетопластом. От переднего конца клетки отходит жгутик (рис. 23.4).

Ультраструктурная организация промастиготы и амастиготы лейшманий в основном сходна. Однако у амастиготы отсутствует внеклеточная часть жгутика, хотя сохраняются блефаропласт и внутриклеточная часть аксонемы.

Лейшмании— агамные организмы, размножающиеся посредством продольного деления. Их жизненный цикл характеризуется обязательной сменой беспозвоночного и позвоночного хозяина.

Беспозвоночными хозяевами и переносчиками лейшманий служат москиты — кровососущие насекомые из отряда двукрылых Diptera.

Рис. 23.4. Leishmania donovani. Строение амастиготы (а) и промастиготы (б) (схема):
1 — ядро; 2 — кинетобласт; 3 — ризоблост; 4 — базальное тело; 5 — жгутиковый карман; 6 — жгутик

Переносчики лейшманиозов человека относятся к двум родам подсемейства Phlebotomine: Phlebotomus и Lutzomyia.

Таким образом, лейшманиозы относятся к облигатно трансмиссивным протозойным инфекциям.

В организме млекопитающих и человека амастиготы лейшманий ведут себя как внутриклеточные паразиты, поражающие гистиофагоцитарную систему хозяина. Различные виды лейшманий характеризуются преимущественной локализацией в определенных органах позвоночного хозяина. Так, L. major и L. tropica паразитируют в коже, L. braziliensis поражает кожу и слизистые оболочки, L. donovani — печень, селезенку, костный мозг.

Каждый вид лейшманий представлен самостоятельным серотипом. Серотипирование — один из важнейших признаков для идентификации лейшманий. Антигенная структура лейшманий характеризуется наличием родо-, подродо- и видоспецифических антигенов. Последние преимущественно входят в состав мембранного антигенного комплекса этих паразитов и представляют собой гликопротеины.

Лейшмании культивируются в виде промастигот на кровяном агаре и других средах. В культуре макрофагов, клеток собачьей саркомы и других клеточных культурах лейшмании развиваются преимущественно как внутриклеточные амастиготы.

Патогенез и иммунитет. В месте инокуляции паразита возникает воспалительный процесс. На ранних его стадиях макрофаги поглощают и переваривают лейшмании. Однако некоторые из них способны противостоять этому процессу и интенсивно размножаться. Возникает кожное поражение — гистиоцитома. При заражении L. major она остается локальной, ограниченной и в дальнейшем претерпевает обратное развитие (самоизлечивающаяся форма кожного лейшманиоза). При американском кожно-слизистом лейшманиозе возбудитель L. braziliensis распространяется по организму хозяина вместе с пораженными амастиготами макрофагами. Возникают вторичные очаги инвазии на коже и слизистых оболочках больного. В дальнейшем пораженные макрофаги метастазируют в хрящевую ткань носа, глотки, гортани, где возникают очаги некроза. Болезнь приобретает хронический характер, длится десятилетиями и при отсутствии лечения часто заканчивается летально.

При висцеральных лейшманиозах, вызываемых L. donovani и L. infantum[1], паразиты локализуются в печени, селезенке и костном мозге. Без специфического лечения исход, как правило, летальный.

Для некоторых видов лейшманий, особенно L. infantum, характерно длительное бессимптомное персистирование в организме позвоночного хозяина, в том числе и человека. При возникновении у пари-

[1] Некоторые исследователи считают вид L. infantum подвидом L. donovani.

зитоносителя состояния иммунодепрессии, например в случае применения иммунодепрессантов при трансплантации органов, при ВИЧ-инфекции и ряде других заболеваний бессимптомное носительство переходит в соответствующую манифестную инфекцию, нередко заканчивающуюся летально.

Основная роль в обеспечении устойчивости к лейшманиозу принадлежит сенсибилизированным Т-лимфоцитам, которые воздействуют на макрофаги, стимулируя их способность противостоять паразитам. Некоторые из них, по-видимому, оказывают цитотоксическое действие на амастиготы, освобождающиеся при разрушении макрофагов. Антитела не обладают протективными свойствами. Они вырабатываются при висцеральных лейшманиозах, заканчивающихся летально, а при самоизлечивающихся формах (зоонозный кожный лейшманиоз) выявляются с трудом и в низких титрах. Некоторые формы лейшманиозов (венесуэльский диффузный кожный лейшманиоз, висцеральные лейшманиозы) характеризуются признаками иммунодепрессии, что приводит к быстрому метастазированию паразитов из первичного очага поражения к генерализации процесса.

Напряженный иммунитет вырабатывается лишь после перенесения кожного зоонозного лейшманиоза (L. major). При американском кожно-слизистом лейшманиозе возникает устойчивость к реинфекции. Однако остаточные очаги инфекционного поражения могут вызывать метастазирование паразитов с последующими деструктивными изменениями слизистых оболочек и кожи. При некоторых видах лейшманиоза формируется полуперекрестный иммунитет.

Так, при лейшманиозе, вызванном L. major, возникает иммунитет и против L. tropica, а после перенесения лейшманиоза, вызванного L. mexaicana, формируется иммунитет и к L. braziliensis. Однако полного перекрестного иммунитета ко всем видам лейшманий не возникает.

Экология и эпидемиология. География лейшманиозов в основном определяется распространением переносчиков — москитов, которые встречаются в зонах тропиков и субтропиков всех частей света, а также в зоне умеренного пояса. Висцеральные лейшманиозы, вызываемые L. infantum, поражают преимущественно детей. Они, по-видимому, возникают при иммунодефицитных состояниях.

Различают несколько эпидемиологических форм лейшманиозов — антропонозы и зоонозы. Большинство из них являются природно-очаговыми заболеваниями.

Лабораторная диагностика. Амастиготы лейшманий выявляются в мазках, приготовленных из соскобов кожных поражений, пунктата костного мозга, окрашенных краской Романовского–Гимза. В некоторых случаях используют серодиагностические реакции (непрямая иммунофлюоресценция, иммуноферментный анализ и др.).

Профилактика и лечение. Специфической профилактики нет. В качестве химиотерапевтических препаратов используют препараты пятивалентной сурьмы: солюсурмин, глюкантим, а также некоторые антибиотики (мономицин). В качестве мер личной профилактики применяют контролируемые прививки вирулентных штаммов L. tropica major и репелленты.

23.5. ТРИПАНОСОМЫ

Тип Sarcomastigophora, подтип Mastigophora, класс Zoomastigophorea, отряд Kinetoplastida.

Возбудители трипаносамозов относятся к обширному семейству Tryanosomatidae, роду Trypanosoma, многочисленные представители которого паразитируют у различных животных (теплокровных и холоднокровных).

Паразитами человека являются Trypanosoma (Shizotrypanum) cruzi (Chagas) — возбудитель американского трипаносомоза (болезнь Шагаса) и T. brucei, который подразделяют на два подвида, поражающих человека. Одни из них T. brucei gambiense (рис. 23.5) — возбудитель антропонозной формы сонной болезни, распространенной преимущественно в Западной Африке, второй — T. brucei rhodesiense[1] — африканского трипаносомоза (сонная болезнь), распространенного в основном в Восточной Африке. Указанные паразиты различаются главным образом по степени вирулентности для человека и по некоторым экологическим признакам.

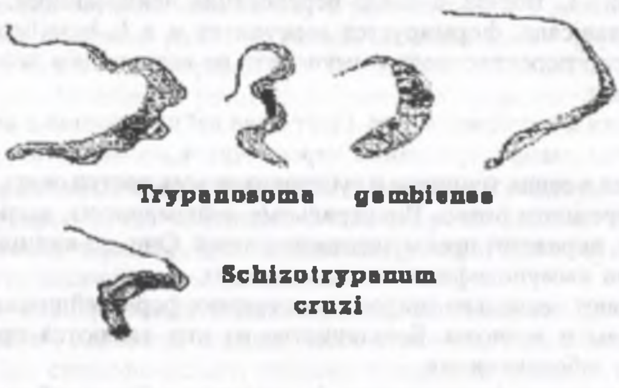


Рис.23.5. Трипаносомы

---

[1] Иногда подвид T. brucei rhodesiense выделяют в самостоятельный вид T. rhodesiense.

Рис. 23.6. Трипаносомы в миокарде.
ЭМ. Ув. 60 000

Трипаносомы — паразиты, облигатно связанные с двумя хозяевами. T. brucei в организме позвоночных животных и человека существует в стадии трипомастиготы, а в организме беспозвоночного (кровососущей мухи цеце) — эпимастиготы и метациклической (инфекционной) трипомастиготы. Цикл развития T. cruzi включает следующие стадии: трипомастиготу и амастиготу в организме позвоночных животных и человека, эпимастиготу и метациклическую трипомастиготу в организме беспозвоночных (триатомовых клопов).

Морфология, физиология. Клетка трипомастиготы имеет вид жгутиконосца с ядром в центральной части и кинетопластом в задней, вблизи которого начинается жгутик. Он направлен параллельно продольной оси клетки и соединяется с пелликулой посредством ундулирующей мембраны, заканчиваясь длинным свободным концом (рис. 23.6).

Будучи облигатными кровепаразитами, трипаносомы в естественных условиях не могут существовать вне организма своих хозяев. Цист не образуют, размножаются агамно путем продольного деления.

В последнее время установлено, что трипаносомы, находящиеся в различных стадиях жизненного цикла отличаются друг от друга по антигенным свойствам.

Патогенные для человека трипаносомы культивируются на питательных средах, содержащих кровь. В культурах преобладает стадия эпимастиготы.

Патогенез и иммунитет. Африканский трипаносомоз (сонная болезнь) в большинстве случаев начинается с появления (на месте укуса зараженной мухи) трипаносомного шанкра, бесследно исчезающего в течение двух недель. Шанкр содержит трипаносомы. При дальнейшем развитии болезни паразиты попадают в кровь и лимфатическую систему. Поражение внутренних органов присоединившейся бактериальной инфекцией часто приводит к летальному исходу.

На этом этапе существенная роль в патогенезе, возможно,-принадлежит аутоиммунным реакциям.

В основе патогенеза болезни Шагаса лежат токсико-аллергические явления, являющиеся следствием поступления в кровь продуктов распада клеток (паразита и хозяина). В стадии амастиготы трипаносомы часто поражают миокард.

Перенесение сонной болезни не оставляет после себя напряженного иммунитета, хотя в сыворотке крови накапливаются антитела классов IgM и IgG. Однако они не обладают протективными свойствами. По-видимому, это связано с чрезвычайно высокой антигенной изменчивостью трипаносом, которая по своим генетическим механизмам принципиально отличается от таковых, присущим другим микроорганизмам.

Экология и эпидемиология. Распространение трипаносомозов соответствует ареалам их основных переносчиков: мухи цеце, триатомовых клопов.

Сонная болезнь широко распространена на Африканском континенте. Различаются эпидемиологические типы сонной болезни — антропонозы и зоонозы.

Лабораторная диагностика проводится путем микроскопического исследования мазков крови, лимфы, спинномозговой жидкости и пунктатов органов больных, окрашенных краской Романовского — Гимзы. В ряде случаев используют серологические реакции (РСК, РИФ) и формоловую пробу.

Профилактика и лечение. Из химиотерапевтических препаратов применяются пентамидин, обладающий трипаноцидным действием. Профилактика основана на борьбе с переносчиками. Вакцинация и химиопрофилактика пока не разработаны.

23.6. ПЛАЗМОДИИ МАЛЯРИИ

Тип Apicomplexa, класс Sporozea, отряд Eucoccidiida, подотряд Haemosporina.

К роду Plasmodium относятся более 100 видов простейших, паразитирующих на различных позвоночных: рептилиях, птицах и млекопитающих. Паразитами человека являются 4 вида малярийных плазмодиев. Plasmodium vivax (Grassi et Feletti) — возбудитель трехдневной малярии, P. malariae (Laveran) — возбудитель четырехдневной малярии, P. falciparum (Wetch) — возбудитель тропической малярии и P. ovale (*Stephens*) — возбудитель малярии-овале (рис. 23.7). В пределах вышеупомянутых видов существуют различные географические расы малярийных плазмодиев, которые иногда рассматриваются с таксономических позиций на уровне подвидов.

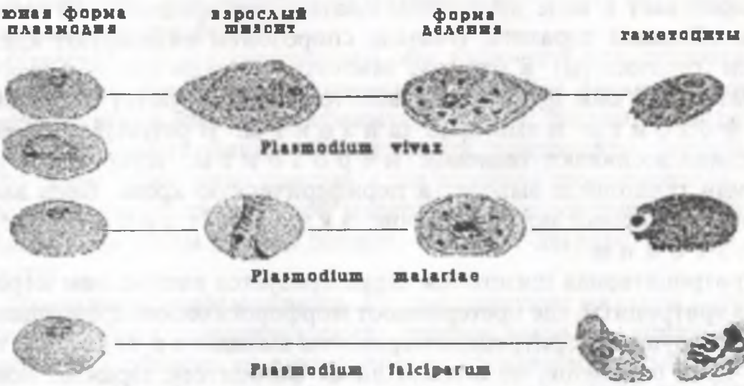


Рис. 23.7. Плазмодии малярии

Рис. 23.8. Комар рода Anopheles. ЭМ

Морфология, физиология. Малярийные плазмодии— паразиты со сложным гетероксеническим развитием, включающим фазу полового размножения, в течение которого они облигатно связаны с двумя хозяевами (окончательным и промежуточным). Человек является промежуточным хозяином малярийных плазмодиев, так как в его организме происходит бесполая фаза жизненного цикла паразитов. Окончательный хозяин малярийных паразитов — кровососущий комар рода Anopheles (рис. 23.7), в организме которого проходит половая фаза их жизненного цикла, которая завершается образованием в теле комара большого количества длинных тонких одноядерных клеток — с п о р о з о и т о в. Они концентрируются в огромных количества в слюнных железах комара. При укусе комара спорозоиты из слюнных желез попадают в кровь позвоночного хозяина.

Бесполая фаза жизненного цикла малярийного плазмодия осуществляется в организме человека и носит название ш и з о г о н и и.

Она протекает в виде двух последовательных процессов со сменой среды обитания паразита. Вначале спорозоиты инвазируют клетки печени (гепатоциты), в которую заносятся с током крови в лимфы. В гепатоцитах они последовательно трансформируются в тканевые трофозоиты и тканевые шизонты. В результате деления последних возникают тканевые мерозоиты, которые при разрушении гепатоцита выходят в периферическую кровь. Весь выше описанный процесс носит название экзоэритроцитарной шизогонии.

Эритроцитарная шизогония характеризуется внедрением мерозоитов в эритроциты, где претерпевают морфологические превращения. После разрушения эритроцита мерозоиты выходят в русло крови, при этом часть паразитов, не подвергшихся фагоцитозу, заражает новые эритроциты, и цикл шизогонии повторяется.

Культивирование малярийных паразитов вне организма человека связано с большими трудностями. В последнее время этой проблеме уделяется большое внимание в связи с работой над созданием противомалярийных вакцин.

Патогенез и иммунитет. Малярийный пароксизм — это реакция организма человека на выход в кровь эритроцитарных мерозоитов, а также малярийного пигмента, продуктов метаболизма паразитов, свободного гемоглобина и структурных фрагментов эритроцитов. Лихорадочная реакция отличается строгой цикличностью, соответствующей цикличности эритроцитарной шизогонии. При этом чужеродные белки малярийных плазмодиев, продукты их метаболизма и денатурированные белки разрушенных эритроцитов вызывают анафилактическую реакцию. Повышается проницаемость стенок капилляров, что при злокачественной форме тропической малярии приводит к отеку головного мозга. При других формах малярии сосудистые изменения выражены слабее. В связи с гиперплазией ретикулоэндотелиальных элементов селезенки угнетается гемопоэз. Патогенез осложняется проявлением аллергических симптомов в виде бронхита и астмы. Все эти явления при отсутствии своевременного специфического лечения (особенно в случае тропической малярии) могут привести к коматозному состоянию и смерти больного.

При малярии в сыворотке крови накапливаются антитела классов IgM и IgG. Однако они не предохраняют от последующих приступов заболевания. Это связано со сменой антигенов малярийного плазмодия в процессе инфекции, что приводит к образованию антител только к одному антигенному варианту, неспособных реагировать с другими.

В 80-х годах был изучен генетический механизм этого явления, заключающийся в том, что в геноме малярийного плазмодия имеются множественные повторы кодирующих единиц, контролирующих синтез антигенов.

Кроме того, при малярии наблюдается активация фагоцитоза инвазированных эритроцитов.

Известны случаи генетически обусловленной невосприимчивости к P. vivax, свойственной коренным жителям Западной Африки. Отмечена также низкая восприимчивость к P. falciparum лиц с аномальным S-гемоглобином. По-видимому, эритроциты, содержащие такой гемоглобин, мало пригодны для развития этого паразита. Мало восприимчивы к тропической малярии лица с генетически обусловленным дефицитом энзима глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы в эритроцитах.

Экология и эпидемиология. Распространение малярии определяется наличием специфических переносчиков — комаров рода Anopheles. Практически единственным носителем паразитов является человек. В редких случаях — некоторые виды приматов. Степень эндемичности очагов малярии и условия циркуляции возбудителей в очагах во многом определяются биологией и экологией комаров-переносчиков. Для малярии свойственна сезонность.

Лабораторная диагностика проводится путем микроскопического исследования мазков крови больного, окрашенных краской Романовского–Гимза. При этом дифференциация видов плазмодиев основана на морфологических особенностях паразитов, а также пораженных эритроцитов. В ряде случаев используется серодиагностика (реакция иммунофлюоресценции, пассивной гемагглютинации, иммуноферментный анализ).

Профилактика и лечение. Для специфической профилактики малярии разрабатываются вакцины, содержащие антигены разных форм малярийного плазмодия. Однако высокая антигенная изменчивость возбудителя, связанная со структурой его генома, чрезвычайно осложняет эту работу.

Из химиотерапевтических препаратов, обладающих шизоцидным действием, применяется хлорохин, амодиахин, а гамонтоцидным действием — пириметамин, прогуанил, хиноцид, примахин.

23.7. ТОКСОПЛАЗМА

Тип Apicomplexa, класс Sporozoa, отряд Eucoccididda, подотряд Eimeriina, семейство Eimeriidae.

Возбудитель токсоплазмоза представлен единственным видом Toxoplasma gondii (Nicolle et Manceaux) (рис. 23.9).

Морфология, физиология. Паразиты обладают гетероксеническим развитием, включающим половое и бесполое размножение со сменой хозяев. Основным хозяином токсоплазмы является кошка, в эпителиальных клетках кишечника которой образуются ооцисты. Промежу-

Рис. 23.9. Toxoplasma gondii

точные хозяева паразита — многочисленные виды птиц и млекопитающих, в том числе и человек. Жизненный цикл токсоплазм включает несколько морфологических стадий:

1) эндозоиты (трофозоиты) и цистозоиты — вне- и внутриклеточные стадии, во время которых паразит находится в разных органах и тканях промежуточных хозяев (включая человека) и размножается бесполым путем (эндодиогения и эндополигения);

2) мерозоиты — внутри- и внеклеточные формы, паразитирующие в эпителиальных клетках кишечника основного хозяина — кошки. Размножаются посредством шизогонии;

3) микро- и макрогаметы — половые стадии развития, образующиеся в основном хозяине — кошке. При слиянии мужских и женских клеток (соответственно, микрогамет и макрогамет) возникает зигота, которая затем превращается в покоящуюся стадию — ооцисту. Ооцисты выводятся во внешнюю среду вместе с фекалиями кошки;

4) спорозоиты — инвазионная стадия, образующаяся в результате спорогонии внутри ооцисты вне организма основного хозяина.

Эндозоиты токсоплазм представляют собой клетки размером 4–7 × 1,5–2 мкм, имеющие форму полумесяца со слабо структурированной цитоплазмой. В задней части клетки расположено ядро. Цистозоиты токсоплазм локализуются в цистах, что обеспечивает паразиту возможность длительной, а иногда и пожизненной, персистенции в организме промежуточного хозяина. Цисты разных размеров (50–200 мкм) располагаются внутриклеточно в головном мозге, поперечно-полосатой мускулатуре и других органах промежуточного хозяина.

Культивируют токсоплазмы в куриных эмбрионах и культурах тканей. Для поддержания паразита используют также лабораторных животных (белые мыши и др.).

Патогенез и иммунитет. Взаимодействие между токсоплазмами и организмом человека в одних случаях приводит к клинически выраженному заболеванию, а в других — к субклинической форме инфекции. В течение инфекционного процесса эти типы взаимоотношений паразита и хозяина могут переходить друг в друга. Наличие того или иного типа обусловлено совокупностью факторов, включающих степень восприимчивости хозяина, входные ворота инфекции, вирулентность и инфицирующую дозу возбудителя. Проникновение

вирулентных эндозоитов в клетку происходит главным образом посредством их активного внедрения, в меньшей степени фагоцитоза. Токсоплазмы обладают цитопатическим действием. Они могут проникать в ядро клетки и паразитировать в нем, располагаясь в кариоплазме.

Токсоплазмы поражают клетки соединительной, эпителиальной, нервной и мышечной тканей. Они часто обнаруживаются в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов. Паразиты продуцируют токсин, имеющий, по-видимому, белковую природу, который участвует в формировании микроочагов некроза. При размножении эндозоитов возникает воспалительный процесс, который постепенно стихает.

Токсоплазмоз может быть врожденным (заражение плода от матери трансплацентарным путем) и приобретенным. Врожденный токсоплазмоз характеризуется поражением токсоплазмами центральной нервной системы и глаз, что вызывает гидроцефалию, хориоретинит, умственную отсталость больного ребенка. Приобретенный токсоплазмоз проявляется в различных клинических формах (лимфогландулярная, миокардическая, энцефалитическая, глазная, кишечная, стоматитная и др.).

Во многих случаях наличие иммунитета приводит к легкому (субклиническому) или полностью бессимптомному течению заболевания.

При заражении эндозоитами токсоплазм происходит интенсивная выработка специфических гуморальных антител классов IgM и IgG. Гуморальные антитела, по-видимому, играют протективную роль. Однако динамика антителообразования не коррелирует со степенью устойчивости организма к токсоплазмам. Для токсоплазмоза характерно формирование реакции ГЗТ. По всей вероятности, иммунитет при токсоплазмозе является нестерильным.

Экология и эпидемиология. Промежуточными хозяевами и носителями токсоплазм являются человек и очень многие виды птиц и животных, в том числе домашних и сельскохозяйственных. Основной путь заражения людей и животных — алиментарный, при приеме в пищу сырого или термических плохо обработанного мяса зараженных животных. Возможны также другие пути заражения человека: контаминационный, воздушно-пылевой (через ооцисты), трансплацентарный. Последний имеет место при заражении беременных женщин.

Большую роль в распространении токсоплазм играют кошки. Эндозоиты токсоплазм сравнительно быстро гибнут во внешней среде, сохраняясь лишь непродолжительное время в трупах и экскрементах своих носителей. Цисты более устойчивы.

Токсоплазмы способны практически неограниченное время существовать в организме своих промежуточных хозяев, размножаясь бесполым путем. Зараженность токсоплазмами населения стран Запад-

ной Европы и Северной Америки составляет 25–50%, Центральной и Южной Америки — до 90%.

Лабораторная диагностика основана главным образом на применении серологических методов: РСК, РПГА, непрямой реакции иммунофлюоресценции, реакции агглютинации с латексом, иммуноферментного анализа и др. Наиболее ценные данные получают при выделении токсоплазм на лабораторных животных, зараженных материалом от больных людей.

Профилактика и лечение. Специфической профилактики нет. Для лечения применяют химиотерапевтические препараты.

23.8. БАЛАНТИДИИ

Тип Ciliophora, класс Kinetofragminophores, подкласс Vestibuliteria, отряд Trichostomatida, род Balantidium.

Паразиты толстой кишки человека — Balantidium coli (Malmsten) относятся к инфузориям (рис. 23.10).

Морфология, физиология. Клетки балантидий яйцевидной формы. Они густо покрыты короткими ресничками, расположенными продольными рядами. На переднем конце клетки имеется щелевидное углубление (перистом), на дне которого помещается ротовое отверстие (цитостом). Ядерный аппарат, типичный для инфузорий, состоит из бобовидного макронуклеуса, расположенного примерно в центре клетки, и находящегося по соседству с ним микронуклеуса.

Жизненный цикл B. coli состоит из двух фаз: бесполой и половой (конъюгация). После конъюгации паразит инцистируется. Цисты выводятся наружу с фекальными массами и довольно стойко сохраняются во внешней среде. Они имеют круглую или овальную форму, покрыты двухслойной оболочкой. Заражение человека цистами происходит через рот.

B. coli растет на тех же питательных средах, что и дизентерийная амеба, при подавлении антибиотиками другой бактериальной флоры.

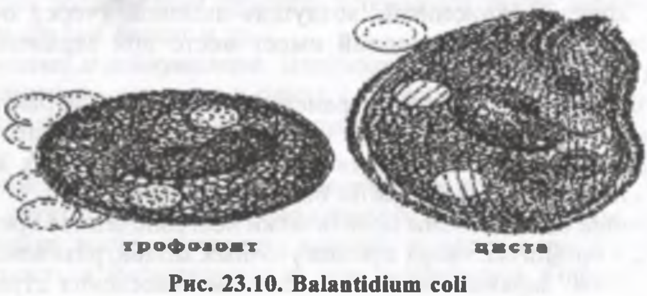


Рис. 23.10. Balantidium coli

Патогенез. Балантидий может жить в просвете толстой кишки человека, питаясь кишечным содержимым и не оказывая патогенного действия на организм своего хозяина. При внедрении в слизистую оболочку кишечника и проникновении в толщу его стенки, паразит начинает питаться клетками хозяина, заглатывая в большом количестве эритроциты. Это приводит к изъявлению внутренней стенки кишки, что сопровождается тяжелой формой кровавого поноса.

Эпидемиология. Распространение убиквитарное. Заболевание встречается редко.

Лабораторная диагностика. Проводят микроскопическое исследование свежих (нативных) препаратов испражнений больных людей, в которых легко обнаруживаются крупные, хорошо подвижные балантидии.

Профилактика и лечение. Специфической профилактики нет. Для лечения применяют те же противопаразитарные химиотерапевтические препараты, что и при амебиазе.

Вопросы для самоконтроля

1. Каковы характерные морфологические, биологические и экологические особенности паразитических простейших? К каким типам относятся простейшие, вызывающие заболевания у человека?
2. Перечислите заболевания, вызываемые патогенными простейшими, и дайте их патогенетическую характеристику в связи с развитием возбудителей в организме человека.
3. Каковы основные принципы лабораторной диагностики протозойных инфекций?
4. Каковы генетические механизмы высокой антигенной изменчивости трипаносом и плазмодия малярии?
5. Перечислите трансмиссивные и нетрансмиссивные протозойные инфекции. Каковы пути проникновения их возбудителей в организм человека?
6. Какие химиотерапевтические препараты и антибиотики применяются для лечения протозойных инфекций?

ГЛАВА 24
ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

В больничные стационары РФ ежегодно поступают миллионы больных. Главной задачей коллективов этих учреждений является быстрое восстановление здоровья госпитализированных больных и создание безопасных условий их пребывания в этих стационарах в плане возможного заражения внутрибольничной инфекцией. В научном плане данная задача решается совместными усилиями клиницистов, эпидемиологов, микробиологов.

Специфические микробиологические проблемы в соматических стационарах существуют давно, но понятие о клинической микробиологии как самостоятельном разделе медицинской микробиологии, отличающейся от инфекционной или санитарной, начало развиваться несколько десятилетий тому назад и продолжает совершенствоваться в настоящее время. Формирование данного раздела связано, главным образом, с постоянной эволюцией бактерий и вызываемых ими болезней, темпы развития которых резко возросли во второй половине XX столетия. За это время значительно увеличилось количество инфекционных заболеваний в неинфекционных клиниках терапевтического и хирургического профиля.

Основной причиной создавшейся ситуации является распространение условно-патогенных микроорганизмов в результате широкого, подчас нерационального применения химиотерапевтических препаратов, особенно антибиотиков, внедрения в лечебную практику процедур, ведущих к нарушению целостности наружных покровов (кожа и слизистые оболочки) и др. Это привело к широкой циркуляции полирезистентных к антибиотикам и больничных эковаров бактерий, нарастанию тяжести внутрибольничных, хронических, смешанных инфекций и сепсиса.

В соответствии с этим **клиническую микробиологию определяют как раздел медицинской микробиологии, исследующий микробиологические аспекты этиологии, патогенеза и иммунитета микробных заболеваний в неинфекционной клинике, разрабатывающей и реализующей методы их лабораторной диагностики, специфической терапии и профилактики.**

Специфика клинической микробиологии состоит в том, что она исследует одну группу микробов — условно-патогенные, одну группу заболеваний — оппортунистические инфекции, и одну антропогенную экосистему — больничные стационары. Исходя из этого, задачи клинической микробиологии состоят в следующем:

1) исследование биологии и роли условно-патогенных микроорганизмов в этиологии и патогенезе инфекционных заболеваний человека, а также в поддержании его здоровья, поскольку они являются нормальными обитателями организма;

2) разработка и использование методов микробиологической диагностики, специфической терапии и профилактики микробных заболеваний, встречающихся в неинфекционных больничных учреждениях;

3) исследование микробиологических аспектов проблем внутрибольничных инфекций, дисбактериоза, лекарственной устойчивости микробов;

4) микробиологическое обоснование и контроль за антимикробными мероприятиями в лечебно-профилактических учреждениях.

24.1. УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ

Это большая и разнородная в систематическом отношении группа, вызывающая у человека болезни при определенных условиях. Условно-патогенные микроорганизмы встречаются среди бактерий, микоплазм, риккетсий, грибов, простейших. Некоторые вирусы, например, α-герпесвирусы 1 и 2 типов, β-герпесвирус, паповавирусы по многим признакам близки к ним.

В современной патологии человека предполагается этиологическая роль около 100 видов условно-патогенных микроорганизмов. *Основное значение среди них имеют представители следующих родов: Staphylococcus, Streptococcus, Peptostreptococcus, Escherichia, Enterobacter, Klebsiella, Citrobacter, Serratia, Proteus, Pseudomonas, Haemophilus, Acinetobacter, Bacteroides, Bacillus, Mycobacterium, Mycoplasma, Candida, Cryptococcus, Pneumocysta.*

В экологическом отношении условно-патогенные микроорганизмы неоднородны. Среди них имеется группа свободноживущих видов, средой обитания которых являются пищевые продукты, почва, вода, органические отходы деятельности людей, лекарственные препараты. Большинство этих видов способны обитать в разных биотопах организма человека и при определенных условиях вызывать заболевания (сапронозы). Однако для продолжения вида живая среда для них не обязательна. В больничных стационарах из данной группы микробов встречаются легионеллы, сарцины, протеи, клебсиеллы пневмонии. Некоторые виды паразитов животных, например, саль-

монеллы, также можно отнести к условно-патогенным бактериям, хотя многие из них являются паразитами человека. Перечисленные бактерии могут находиться с ним в симбиотических отношениях. Однако при определенных условиях они вступают в конкурентные отношения и вызывают инфекционные заболевания, хотя это не дает им биологических преимуществ, более того, может привести к потере хозяина.

Патогенность. Развитие инфекционного процесса, в первую очередь, зависит от входных ворот инфекции и способности возбудителя адаптироваться в них. Аутохтонные для определенного биотопа условно-патогенные виды хорошо адаптированы к своему хозяину и легко приспосабливаются при попадании в аналогичные биотопы другого человека. Эффективность адаптации аллохтонных условно-патогенных микроорганизмов в значительной мере зависит от совпадения экологической ниши с аутохтонными видами и характера экологических связей между ними: совпадение экологической ниши при конкурентных отношениях препятствует адаптации в месте входных ворот и наоборот. Та же закономерность характерна для действия элиминирующих механизмов входных ворот инфекции хозяина: они активны против облигатно-патогенных видов, менее активны или вовсе неактивны против условно-патогенных видов. Исключение составляет кровь и лимфа, элиминирующее действие которых направлено как против облигатно-, так и условно-патогенных микробов, причем первые более резистентны к нему.

В механизме адаптации проникших в организм бактерий решающее значение имеют лигандо-рецепторные взаимодействия между лигандами бактерий и клеточными рецепторами, заканчивающиеся адгезией. Поверхность эпителиальных клеток здоровых людей почти сплошь занята представителями аутохтонной микрофлоры. Более того, эпителий с прилипшим к нему слоем бактерий является единой структурой, выполняющей защитную функцию. Это свидетельствует о том, что в развитии инфекции существенное значение имеют не сами адгезивные свойства условно- и облигатно-патогенных бактерий, а их способность преодолевать конкурирующее действие аутохтонной микрофлоры.

Инвазия в глубину тканей и агрессия — подавление фагоцитирующих и иммунокомпетентных клеток организма хозяина отсутствуют или обнаруживаются только у отдельных штаммов или больничных эковаров. Поэтому развитие оппортунистических инфекций происходит либо при пассивном заносе возбудителя в иммунодефицитный организм, либо при поступлении большого количества эндотоксина (ЛПС) в кровь в случае массовой гибели грамотрицательных бактерий. Поскольку сами условно-патогенные

бактерии не продуцируют белковые экзотоксины и не способны к внутриклеточному паразитированию, их эндотоксин можно рассматривать как универсальный фактор патогенности. Мишенью для действия эндотоксина являются клетки многих органов человека, что определяет идентичность или близость вызванных им поражений. Поскольку токсичность эндотоксина невелика, то только его высокие концентрации могут вызвать клинические поражения.

Условно-патогенные бактерии продуцируют большое количество разнообразных эктоферментов: гиалуронидаза, эластаза, коагулаза, фибринолизин, нейраминидаза, лецитиназа, нуклеазы, дезаминазы, декарбоксилазы и другие, оказывающие деполимеризующее или конформационное действие на свободные или входящие в состав клеток молекулы. Перечисленные факторы вирулентности, кроме эндотоксина, выявляются у условно-патогенных бактерий в неполном и разном комплекте.

Популяции. Для различных видов условно-патогенных бактерий — обитателей организма человека (стафилококки, псевдомонады, энтеробактерии, актинобактерии и др.) — характерны многочисленность особей, гетерогенность и изменчивость популяций, а также участие в различных микробиоценозах.

Гетерогенность популяций условно-патогенных бактерий проявляется почти по всем признакам, но особенно она выражена в антибиотикорезистентности, а также устойчивости к антисептикам, дезинфектантам, бактериофагам и бактериоцинам. Выше уже указывалось на гетерогенность популяций по факторам патогенности. Хорошо известна высокая гетерогенность антигенной структуры большинства условно-патогенных бактерий, которая создает большие сложности в идентификации выделенных культур.

Основная причина гетерогенности популяций условно-патогенных бактерий в патологических очагах состоит в том, что инфицирование человека происходит гетерогенным пулом возбудителя, а в процессе болезни происходит суперинфицирование больничными эковарами.

Популяции условно-патогенных бактерий не только гетерогенны, но и изменчивы в процессе лечения в сторону перехода от чувствительных вариантов к полирезистентным, от внебольничных эковаров к больничным.

Элиминация отдельных эковаров из популяции контролируется иммунной системой организма, антимикробными и иммуностимулирующими препаратами. Учитывая гетерогенность и изменчивость популяций условно-патогенных бактерий, вызывающих оппортунистические инфекции, практически важно:

а) исследовать большое число культур одного вида в процессе микробиологической диагностики;

б) при выборе химиотерапевтических средств ориентироваться на варианты и штаммы возбудителя, обладающие наиболее высоким уровнем резистентности к антибиотикам и антисептикам;

в) наблюдать в динамике болезни за количественными и качественными изменениями в составе популяции возбудителя и корректировать схему лечения;

г) предупреждать суперинфекцию как путем изоляции патологических очагов, так и резкого снижения массивности микробной дессиминации объектов внешней среды.

Микробиоценозы. Условно-патогенные микробы обитают в виде сообществ — микробиоценозов, включающих сотни популяций разных видов микроорганизмов. В систематическом отношении в составе микробиоценоза здоровых людей содержатся представители разных таксонов бактерий, грибов, простейших, вирусов, в экологическом — в него входят аутохтонные, аллохтонные и заносные виды, которые могут быть свободно живущими, непатогенными, условно- и облигатно-патогенными микроорганизмами. Члены микробиоценоза занимают в биотопе определенные экологические ниши и находятся между собой в определенных экологических отношениях: симбиоз, конкуренция, нейтрализм. Эти факторы в основном определяют количественные соотношения между ними.

Микробиоценозы людей, находящихся в больничных стационарах, отличаются от таковых вне стационара, прежде всего колонизацией биотопов больничными эковарами. Частота колонизации выше у иммунодефицитных лиц, новорожденных и больных, находящихся длительное время на стационарном лечении. Она высока и у медицинских работников, работающих в данных учреждениях.

Эти отличия касаются также снижения способности к аутостабилизации, усилении конкурентных взаимоотношений между сочленами микробиоценоза и отдельных его представителей с организмом хозяина, а также в увеличенной частоте внутри- и межпопуляционного обмена.

Видовой и вариантный состав микробиоценозов определяют путем установление количества КОЕ (колониеобразующих единиц) в 1 мл исследуемого материала. За этиологически значимое число КОЕ/мл принимают для бактерий 10^5, для грибов и простейших — 10^3–10^4 и более. В случае выделения из патологического материала нескольких вариантов или видов микроорганизмов за ведущего возбудителя принимают доминирующий вид или вариант. Вспомогательное значение в установлении этиологической роли выделенной культуры имеет повторное выделение (через сутки или раньше) того же вида или биовара, обнаружение у нее тех же факторов вирулентности, нарастание в сыворотке больных антител к данной культуре в 4 и более раза и ряд других тестов.

24.2. ОППОРТУНИСТИЧЕСКИЕ ИНФЕКЦИИ

Развитие и течение оппортунистических инфекций (лат. *opportunas* — склонный к заболеванию) определяются тремя группами факторов: свойствами возбудителя, состоянием макроорганизма и внешней среды. Со стороны возбудителя решающее значение в возникновении инфекции имеет высокая и гетерогенная по патогенности инфицирующая доза возбудителя и наличие у него определенного набора факторов вирулентности. Со стороны организма человека — нарушение целостности покровов и, что наиболее существенно, иммунодефицитные состояния. Значение окружающей среды связано с наличием факторов передачи возбудителя от инфицированного человека не инфицированному.

Возбудители оппортунистических инфекций не имеют строго выраженного органного тропизма, вследствие чего один и тот же вид может вызвать различные нозологические формы (бронхит, менингит, пиелонефрит и др.). В свою очередь одна и та же нозологическая форма заболевания (пневмония, остеомиелит, сепсис и др.) может быть вызвана любым условно-патогенным микроорганизмом.

Оппортунистические инфекции часто вызываются ассоциацией микроорганизмов. Смешанные, или микст-инфекции, возникают в результате одновременного, а чаще последовательного заражения человека несколькими видами возбудителей.

Клиническая картина оппортунистических инфекций мало специфична. Она зависит в большей мере от локализации поражения, чем от вида возбудителя. Для этих инфекций характерно хроническое течение. В основе хронизации лежит иммунодефицит, а также смена вариантного или видового состава возбудителей в течение болезни. Эти же факторы обусловливают склонность оппортунистических инфекций к генерализации, развитию септикопиемии.

К особенностям оппортунистических инфекций относится так же сложность лечения, которая связана с множественной устойчивостью возбудителей к антимикробным препаратам, недостаточной активностью факторов неспецифической защиты, а также слабым иммунным ответом организма больного на антигены возбудителя. В связи с этим главным принципом лечения оппортунистических инфекций является сочетанное применение препаратов микробицидного действия и иммуностимулирующей терапии. Вместе с тем оппортунистические инфекции отличаются от заболеваний, вызванных облигатно-патогенными микроорганизмами, такими эпидемиологическими особенностями, как широкое распространение в больничных стационарах, частые случаи эндогенной инфекции.

В диагностике оппортунистических инфекций решающими являются микробиологические методы исследования. В их задачу входит

установление возбудителя (возбудителей) болезни, определение иммунологического статуса больного, выяснение источника и факторов передачи возбудителей.

В установлении этиологии заболевания основное значение имеет выделение чистой культуры возбудителя из патологического материала. Однако выделение культуры условно-патогенного микроорганизма от больного еще не подтверждает его участия в развитии патологического процесса, поскольку большинство условно-патогенных микроорганизмов обитают у всех или большинства здоровых людей. Поэтому при диагностике оппортунистических инфекций в качестве обязательного предусмотрен количественный критерий, под которым понимают количество колониеобразующих клеток выделяемого вида микроорганизма в 1 мл исследуемого материала.

24.2.1. Этиология бактериемии и сепсиса

Бактериемия — фаза патогенеза инфекционных заболеваний, во время которой возбудитель попадает в кровь и переносится с ней в другие места локализации (биотопы). При этом значительная его часть гибнет, вызывая интоксикацию, остальные захватываются клетками лимфоидно-макрофагальной системы, гибнут или персистируют в них. Размножения возбудителя в крови при бактериемии не происходит, поскольку кровь сохраняет свои бактерицидные свойства.

Фаза бактериемии закономерна при заболеваниях, передающихся кровососущими паразитами, а также при брюшном тифе, лептоспирозе, бруцеллезе, листериозе, менингококковой инфекции и др. Она нередко осложняет течение тяжелых форм инфекций, вызываемых условно-патогенными бактериями. В этих случаях бактериемия переходит в сепсис. Кратковременная (транзиторная) бактериемия возможна при голодании, переутомлении, перегревании, переохлаждении, травмах, некоторых медицинских вмешательствах.

Сепсис — тяжелое острое или хроническое генерализованное самостоятельное инфекционное заболевание крови. Обычно развивается на фоне глубокого иммунодефицита или сенсибилизации организма к антигенам возбудителя. Единственным местом обитания и размножения возбудителя является кровь.

Выделяют две формы сепсиса — *септицемию* и *септикопиемию*. При *септицемии* (первичном сепсисе) возбудитель сразу же из входных ворот инфекции попадает в кровь и размножается в ней. При этом первичный локальный очаг воспаления отсутствует при развитии вторичных метастатических очагов.

Септикопиемия (вторичный метастатический сепсис) развивается в результате генерализации локального инфекционного процесса. В зависимости от первичного локального очага выделяют родовой,

раневой, пупочный, урогенитальный, стоматогенный сепсис. Сепсисом может осложниться перитонит, менингит, политравмы с шоком и большой потерей крови, инфекционные процессы у новорожденных, пожилых людей, заболевания крови, декомпенсированные формы диабета, СПИД, предмортальный период многих болезней. В учении о сепсисе часто используются термины хирургический, ятрогенный, хрониосепсис.

Для сепсиса, в отличие от бактериемии, характерны утрата кровью бактерицидных свойств и, как следствие этого — размножение возбудителя в крови, сочетание признаков инфекции, микробной интоксикации и повышенной реактивности организма. Исход сепсиса тяжелый. Летальность при хирургической форме сепсиса в 80-е годы достигала 30–40%, а при полимикробном ятрогенном сепсисе и сепсисе у новорожденных была в два раза выше. По данным американских авторов, в США в 80-е годы от сепсиса ежегодно умирало больше людей, чем от всех вместе взятых инфекционных заболеваний.

Сепсис относится к полиэтиологичным заболеваниям. В этиологии большинства форм сепсиса ведущее место занимает S. epidermidis и S. aureus, далее следуют E. coli, Proteus spp., K. pneumoniae и другие условно-патогенные виды энтеробактерий, а также P. aeruginosa, Streptococcus pyogenes, pneumoniae, faecalis; Bacteroides spp., Acinetobacter spp., Candida albicans и др. Обычно сепсис вызывается каким-либо одним видом микроба. Однако примерно в 7–10% случаев при сепсисе выделяются два или даже три вида возбудителя.

Ведущее значение в развитии сепсиса принадлежит иммунодефициту, особенно неспособности иммунной системы локализовать возбудителя в месте первичного очага инфекции. Вероятность развития сепсиса резко повышается при попадании в кровь больших количеств возбудителя с высокой вирулентностью. Штаммы, выделенные из крови больных сепсисом, часто относят к больничным эковарам, обладающим как высокой вирулентностью, так и множественной резистентностью к антибиотикам.

Микробиологическая диагностика сепсиса состоит в выделении гемокультуры и установлении пораженного звена иммунной системы организма. Вспомогательное значение имеет изоляция культуры из первичных и вторичных локальных очагов инфекции. Вероятность выделения гемокультуры повышается при заборе материала до начала химиотерапии, во время подъема температуры, посеве больших количеств крови, широком спектре селективных сред и повторных посевах крови. Выбор питательных сред и условий культивирования зависит от вида предполагаемого возбудителя.

Выделение из крови как облигатно-, так и условно-патогенных бактерий независимо от их количества расценивается как сепсис или бактериемия.

24.2.2. Этиология оппортунистических гнойно-воспалительных процессов

Гнойным или гнойно-воспалительными инфекциями называют заболевания, сопровождающиеся развитием гнойного или серозно-гнойного воспаления микробной этиологии. Гнойные инфекции могут быть острыми или хроническими, местными (локальными), системными и генерализованными. Локальные и системные делят в свою очередь на несколько групп, различающихся по происхождению, локализации и этиологии.

24.2.2.1. Этиология раневой и ожоговой инфекции

Этиологическая структура раневой инфекции зависит от типа и локализации раны, времени и места инфицирования. При бытовых, производственных, боевых ранениях микроорганизмы проникают в рану с поверхности ранящего орудия, одежды, поврежденного участка кожи и органов, содержащих собственную микрофлору. Эти условно-патогенные микроорганизмы обладают низкой вирулентностью и чувствительностью к антибиотикам и антисептикам. Во время пребывания в больничном стационаре может происходить инфицирование раны другими видами возбудителей или тем же видом, но иным вариантом. Как правило, вновь попавшие в рану микроорганизмы относятся к больничным эковарам, они устойчивы к факторам неспецифической защиты организма хозяина и антимикробным препаратам. В результате происходит вытеснение внебольничных вариантов из раны.

Возбудителями гнойно-воспалительных процессов при ранениях кожи и мягких тканей на первом этапе являются золотистый и эпидермальный стафилококки, реже — пиогенный стрептококк, протей, синегнойные бактерии, энтеробактерии, бактероиды. В этих случаях в ране нередко обнаруживаются монопопуляции. На последующих этапах возрастает процент смешанных инфекций, причем частыми компонентами микробных ассоциаций становятся кишечная палочка, клебсиеллы, энтеробактер, протей, синегнойные бактерии, аспорогенные анаэробы. При этом происходит смена чувствительных к антибиотикам и антисептикам бактерий на полирезистентные. При ранениях промежности, малого таза и брюшной полости с повреждениями внутренних органов возрастает количество бактероидов, энтеробактерий, псевдомонад и их ассоциаций.

Операционные раневые инфекции делятся на эндогенные и экзогенные, первичные и вторичные. При эндогенном инфицировании возбудители попадают в рану с кожи в области операционного поля, вскрытых инфекционных очагов и органов, содержащих собственную микрофлору. Видовой состав возбудителей в этом случае соответствует таковому оперированных тканей и органов.

Первичная операционная инфекция раны может возникнуть в результате экзогенного заноса возбудителя при оперативном вмешательстве. В этих случаях возбудителями раневой инфекции становятся больничные штаммы, циркулирующие в данном отделении. Вторичная раневая инфекция, как и первичная на позднем этапе развития, в основном обусловлена больничными вариантами бактерий. Она чаще носит смешанный характер с преобладанием грамотрицательных бактерий.

Ожоговая инфекция во многом близка к раневой. Инфицирование раны сразу после ожога происходит с неповрежденных участков кожи или слизистой оболочки, с одежды, из воздуха и других объектов внешней среды. В стационаре внебольничная микрофлора заменяется больничными эковарами. Возбудителями ожоговой инфекции являются стафилококки, пиогенный стрептококк, синегнойные бактерии, кишечная палочка, энтеробактерии. При глубоких ожогах — анаэробные бактерии.

Для ожоговой инфекции характерны частое присутствие в ране нескольких видов микроорганизмов, выраженная гетерогенность их популяций, высокая устойчивость к антимикробным препаратам, постоянное изменение видового и вариантного состава возбудителей. Ожоговая инфекция нередко осложняется сепсисом с высокой летальностью.

24.2.2.2. Этиология гнойно-воспалительных заболеваний различных органов и тканей

Возбудителями эндогенных гнойных инфекций являются аутохтонные для больного виды, относящиеся к внебольничным эковарам. При экзогенном инфицировании во внебольничных стационарах гнойные процессы вызывают внебольничные эковары гноеродных бактерий, в больничных стационарах — больничные эковары тех же видов. В начальном периоде болезни инфекция чаще всего вызывается одним видом, в поздний период болезни видовой состав возбудителей расширяется в основном за счет появления грамотрицательных больничных эковаров. Хронические процессы по сравнению с острыми и открытые по сравнению с закрытыми имеют более широкий спектр возбудителей с присутствием гетерогенных популяций больничных эковаров.

К экзогенным инфекциям относится широко распространенная группа хирургических заболеваний: фурункулы, карбункулы, абсцессы, флегмоны, гидроаденит, пиодермии, панариций, рожистое воспаление, остемиелит и другие. Возбудители проникают в организм через трещины, царапины, ссадины, уколы, расчесы кожи, но могут быть занесены гематогенным и лимфогенным путями из инфекционных очагов в других частях тела, а также при медицинских

вмешательствах (инъекция лекарственных препаратов, биопсия, забор крови для анализа и т.д.).

Возбудителем рожистого воспаления, не сопровождающегося образованием и выделением гноя, является пиогенный стрептококк. Остальные нозологические формы инфекций полиэтиологичны. Ведущими возбудителями являются золотистый и эпидермальный стафилококки, реже встречается пиогенный стрептококк, кишечная палочка, протей, синегнойные бактерии, бактероиды, иногда микобактерии. Первично закрытые процессы обычно вызываются однородной по своим признакам популяцией одного вида, чаще представителями микрофлоры кожи самого организма. После спонтанного или хирургического вскрытия часто происходит суперинфекция больничными эковарами того же вида или вторичная инфекция другими видами, чаще грамотрицательными бактериями (кишечной палочкой, протеем, синегнойными бактериями). Постинъекционные абсцессы и флегмоны вызываются больничными эковарами тех же видов, как и послеоперационные инфекции.

Острый гнойный отит у взрослых вызывают различные виды стафилококков, пиогенный стрептококк, у детей — стрептококки пневмонии, кишечная палочка, а также анаэробные стрептококки.

Хронический средний отит вызывают ассоциации грамотрицательных бактерий (протей, синегнойные бактерии, анаэробы — фузобактерии, бактероиды).

Острый гайморит и *фронтит* вызывают стафилококки, стрептококки, при хронических формах обычно встречаются стафилококки и стрептококки, протеи, клебсиелла пневмонии, кишечная и синегнойная палочки.

Гнойный паротит вызывают стафилококки, флегмонозный и гангренозный — пиогенный стрептококк.

Гнойный медиастенит чаще является осложнением оперативных вмешательств на сердце и легких. Он вызывается анаэробными стрептококками и больничными эковарами стафилококков.

Гнойный перикардит вызывают золотистый стафилококк, пиогенный и анаэробные стрептококки.

Послеродовые маститы и панариции относятся к стафилококковым инфекциям. После вскрытия к основному возбудителю могут присоединиться грамотрицательные бактерии.

Гнойный аппендицит вызывают ассоциации аутохтонных для кишечника бактерий: кишечная палочка, бактероиды, протеи и другие энтеробактерии.

Холецистит и *гнойный панкреотит* вызывают кишечная палочка, стафилококки и протеи.

Гнойный парапроктит является смешанной инфекцией аэробных и анаэробных бактерий, среди которых ведущую роль играют кишечная палочка и бактероиды.

Гнойный перитонит возникает в результате нарушений проницаемости органов брюшной полости при заносе микроорганизмов гематогенным и лимфогенным путем из других органов больного, а также во время оперативных вмешательств и при ранениях. Возбудителями перитонита при эндогенной инфекции являются ассоциации кишечной палочки, бактероидов, протея, энтеробактера, клебсиелл, фекального стрептококка, часто со стафилококком. Послеоперационный перитонит вызывают больничные эковары стафилококков, кишечной палочки и других грамотрицательных бактерий.

Острый гематогенный остеомиелит вызывают золотистый стафилококк, хронические и травматические формы болезни — ассоциации стафилококков с грамотрицательными бактериями.

Омфалит развивается обычно в первые 10 дней после рождения ребенка в результате инфицирования пупочной ранки эпидермальным стафилококком, также синегнойной и кишечной палочками.

Сальпингоофориты (аднекситы) разделяют на специфические — гонококковый, туберкулезный, и неспецифические — оппортунистические, вызванные кишечной палочкой, стафилококком, пиогенным стрептококком.

Микробиологическая диагностика. Для установления возбудителя (возбудителей) гнойной инфекции основное значение имеет бактериологическое исследование. Для предварительного диагноза используют иммунофлюоресцентный метод. При неясных или отрицательных результатах бактериологического исследования определяют нарастание титра антител к доминирующей аутокультуре или диагностикумам, из видов которых преимущественно встречаются при определенных нозологических формах болезни.

Заключение о возбудителе дается на основании количественных критериев. В случае выделения монокультуры из закрытых гнойных очагов этиологически значимыми являются 10^4 КОЕ (колониеобразующих единиц), при открытых процессах — 10^5 КОЕ. В тех случаях, когда выделено два или более видов, ставится диагноз микстинфекции. Рекомендуется бактериологические исследования повторять через каждые 5–7 дней, поскольку состав возбудителей в течение инфекции может измениться.

24.2.2.3. Этиология оппортунистических бронхо-легочных инфекций

Инфекции дыхательных путей могут быть вызваны специфическими возбудителями и условно-патогенными бактериями. Последние протекают в виде бронхита, пневмонии, абсцесса и гангрены легкого, эмпиемы плевральной полости. Ведущее место в данной группе болезней занимают острый и хронический бронхиты.

Заражение возбудителями оппортунистических инфекций происходит воздушно-капельным путем. В некоторых случаях возбудители

проникают из крови. Это имеет место при оперативных вмешательствах, эндоскопических исследованиях, во время интратрахеального введения аэрозолей и растворов.

Занос условно-патогенных бактерий в дыхательные пути не обязательно приводит к развитию инфекции. У здоровых людей бронхи обладают выраженной способностью к самоочищению. Кроме того, слизистая оболочка респираторного тракта обладает выраженными барьерными функциями против условно-патогенных бактерий. Поэтому для возникновения инфекции необходима высокая инфицирующая доза возбудителя, нарушение целостности слизистой и снижение самоочищающей функции дыхательных путей. Иммунодефицитные состояния разного происхождения в значительной степени повышают риск возникновения инфекции.

Этиологическая структура бронхо-легочных заболеваний в значительной мере зависит от их формы. Острые бронхиты во многих случаях первоначально возникают в результате вирусных инфекций. В ряде случаев первичными этиологическими агентами могут быть стрептококки пневмонии, бактерии инфлюэнцы и др. К вирусной инфекции может присоединиться вторичная бактериальная, микоплазменная, реже грибковая инфекция, в результате чего процесс приобретает гнойный характер. В качестве возбудителей вторичных инфекционных агентов чаще встречаются S. aureus, H. influencae, S. epidermidis, E. coli, K. pneumoniae и др.

Хронический бронхит в начальной стадии протекает как неинфекционное заболевание, которое в последующем переходит в инфекционный процесс, вызванный разнообразными микробными ассоциациями. Ведущими из них являются стрептококки пневмонии, бактерии инфлюэнцы, золотистый и эпидермальный стафилококки. В зависимости от целого ряда факторов возбудителями хронического бронхита могут быть кишечная палочка, клебсиелла пневмонии, протей, синегнойные бактерии, пиогенный стрептококк, бранхамелла, нейссерии, акинетобактерии, энтеробактер, бактероиды, фузобактерии, пептострептококки, кандиды и др. Качественный и количественный состав микробных ассоциаций постоянно меняется в процессе инфекции. При нахождении больного в больничном стационаре ведущее значение в этиологии приобретают больничные эковары условно-патогенных бактерий.

При абсцессе легкого, возникающего как осложнение пневмонии или гнойного бронхита, ведущее значение занимают гноеродные кокки в ассоциации с грамотрицательными бактериями, а при гангрене легкого — анаэробные неспорообразующие бактерии в ассоциации с гноеродными кокками и грамотрицательными бактериями.

Острая пневмония чаще всего вызывается S. pneumoniae в монокультуре или в ассоциации с золотистым или эпидермальным стафи-

лококком и грамотрицательными бактериями. Около 10–30% пневмоний у детей — вирусами и микоплазмами. Наряду с упомянутыми бактериями возбудителями тяжело протекающей пневмонии у детей может явиться Pneumocysta carinii, а у взрослых — Legionella pneumophilia (болезнь легионеров).

Хроническая пневмония по сравнению с острой чаще имеет полимикробную этиологию, причем число ассоциаций в качественном и количественном отношении значительно больше. Ее возбудителями являются те же виды бактерий, которые встречаются при хроническом бронхите и острой пневмонии. По типу хронической пневмонии протекает легочный микобактериоз, вызванный условно-патогенными микобактериями (*см. 24.2.2.6*).

Микробиологическая диагностика. Окончательный диагноз устанавливают путем проведения бактериологического исследования с целью выделения чистой культуры (культур) возбудителя. Предварительные или дополнительные данные могут быть получены с помощью реакции иммунофлюоресценции и реакции набухания капсулы, выявления нарастания титра антител в течение болезни к доминирующей аутокультуре. Этиологически значимыми для мокроты и промывных вод бронхов являются следующие минимальные концентрации возбудителей: для стрептококков — 10^6 КОЕ/мл, стафилококков — 10^5, энтеробактерий и грамотрицательных неферментирующих бактерий — 10^4, Candida albicans — 10^3.

У этиологически значимых культур (популяций) определяют чувствительность к химиопрепаратам, антисептикам и, в случае необходимости, вирулентность и вариантный состав (серо-, фаго-, резистенс-биовары). Поскольку в процессе болезни часто наблюдается смена видового и вариантного состава возбудителей, то каждые 5–7 дней исследование повторяют.

24.2.2.4. Этиология оппортунистических уроинфекций

Оппортунистические уроинфекции протекают в виде гломерулонефрита, пиелонефрита, околопочечных абсцессов, цистита, простатита, уретрита, послеоперационной инфекции, в том числе связанной с пересадкой почек. Течение перечисленных локальных инфекций нередко осложняется уретральной лихорадкой, уросепсисом и иногда бактериальным шоком. Длительное выделение с мочой больших количеств бактерий при отсутствии клинических проявлений обозначается как бессимптомная бактериурия.

В мочевую систему условно-патогенные бактерии проникают гематогенным путем, при травмах органов мочеполовой системы, их контакте с инфицированными органами малого таза и восходящим путем через уретру. Последний путь является главным. Он может быть результатом медицинских вмешательств или происходит самопроиз-

вольно. Судьба проникших в мочеполовую систему условно-патогенных микробов зависит от инфицирующей дозы возбудителя и особенно от состояния местного и общего иммунитета. Категориями риска являются больные с врожденными пороками развития мочевой системы, почечнокаменной болезнью, нарушениями проводимости спинного мозга, инфекционными очагами в малом тазу, иммунодефицитами, медицинскими вмешательствами на мочеполовой системе.

Гломерулонефрит обычно вызывается нефрогенными штаммами S. pyogenes, а также стафилококками. Остальные уроинфекции вызываются главным образом грамотрицательными бактериями, прежде всего E. coli и Proteus spp. В перечень возбудителей также входят K.pneumoniae, Enterobacter spp., Citrobacter freundii, P.aeruginosa, S. epidermidis, S. aureus, Streptococcus pyogenes et faecalis, Bacteroides spp., Candida.

Уропатогенные кишечные палочки, на которые приходится большинство уроинфекций, относятся к определенным сероварам, содержат Р-адгезины к рецепторам эпителиоцитов мочевых путей. Они образуют капсулу, выделяют гемолизины и хорошо размножаются в кислой среде. Острые уроинфекции чаще всего вызываются одним видом, хронические и послеоперационные — ассоциацией возбудителей.

Микробиологическая диагностика оппортунистических уроинфекций, так же как бессимптомной бактериурии, основана на выделении культуры. Ориентировочные данные в возбудителе могут быть получены микроскопией осадка мочи, дополнительные данные — с помощью серологических реакций с аутокультурами этиологически значимых видов.

Оценка результатов исследований сложна. Пузырная моча при прохождении через дистальный отдел уретры, как правило, обсеменяется представителями нормальной микрофлоры, большинство из которых одновременно являются и главными возбудителями оппортунистических уроинфекций. Для отличия возбудителя уроинфекции от микробов-контаминантов и других этиологически незначимых видов используют количественный метод. Содержание выделенной культуры в количестве 10^6 и больше особей в 1 мл мочи безусловно указывает на этиологическую роль выделенной культуры. Величина 10^5 в большинстве случаев также оценивается как этиологически значимая. Величины 10^4–10^3 могут содержаться в моче здоровых и тем более больных людей, и поэтому требуют получения дополнительных критериев (повторный высев, принадлежность культуры к больничным эковарам, патогенность и др.) и совместной с урологом оценки.

Диагноз бессимптомной бактериурии выставляется в тех случаях, когда при отсутствии симптомов поражения мочеполовых путей из мочи повторно выделяют большое число бактерий (10^6 и более).

24.2.2.5. Этиология оппортунистических острых кишечных инфекций

Оппортунистические ОКЗ вызывают Escherichia coli, Citrobacter froundii, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter cloacae, aerogenes и др., Serrata marcescens, Hafnia alvei, Arisona, Proteus mirabilis, vulgaris и др., Morganella morganii, Providencia rettgeri, stuarty, alcalifaciens, Pseudomonas aeruginosa, Campilobacter jejuni, Plesiomonas shigelloides, Vibrio haemolyticus, НАГ-вибрионы, Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis (энтерококк), Clostridium perfringens, Bacillus cereus.

Заболевания, вызванные указанными видами, чаще протекают по типу пищевой токсикоинфекции, реже — микробной интоксикации (стафилококковая, клостридиальная) и инфекционного заболевания (эшерихиозы, кампилобактериозы).

Заражение ОКЗ происходит в результате приема контаминированной микробами пищи, в которую они попадают от людей — больных и носителей, реже от животных. В пищевых продуктах указанные виды бактерий способны к размножению в условиях комнатной температуры, а псевдомонады и клебсиеллы — при температуре бытового холодильника. При размножении стафилококка и клостридий в пищевых продуктах накапливается экзотоксин. Кроме алиментарного возможна передача возбудителей контактно-бытовым путем и через воду, но эти пути менее эффективны, поскольку в большинстве случаев не могут обеспечить попадание в организм достаточной инфицирующей дозы.

Кроме попадания высокой инфицирующей дозы и вирулентности возбудителя в развитии заболевания большое значение имеют условия, способствующие быстрому и массовому его размножению в тонкой кишке или желудке. У стафилококка и клостридий главным фактором патогенности является экзотоксин, у остальных микробов — эндотоксин, который выделяется в больших количествах при массовом распаде попавших в кишечник бактерий и оказывает местное и общее повреждающее действие.

При этом клинически заболевания чаще всего проявляются в форме гастрита, энтерита, гастроэнтерита, колита. Большинство возбудителей вызывают заболевания, протекающие в легкой форме. E. coli может вызвать тяжелые формы, сопровождающиеся обезвоживанием организма или осложняющиеся сепсисом. Клостридии перфрингенс вызывают заболевания, протекающие по типу интоксикаций, сепсиса, некротического энтерита.

Микробиологическая диагностика оппортунистических ОКЗ основана на бактериологическом исследовании. При хронических и затяжных формах в сыворотке крови нередко выявляют нарастание титра антител к доминирующей культуре. Исследование на условно-

патогенные бактерии проводят после отрицательных результатов посевов на облигатно-патогенных возбудителей. Целесообразнее материал засевать на дифференциально-диагностические среды, позволяющие наряду с облигатно-патогенными бактериями выделить условно-патогенные виды.

Оценка этиологической роли выделенных культур проводится на основании их соответствия перечисленным выше критериям. Этиологически значимой для бактерий, присутствующим в кишечнике здоровых людей, является величина 10^6 КОЕ/г материала. Для выделения кишечной палочки и бактероидов, которые в кишечнике присутствуют в значительных количествах, необходимы дальнейшие исследования. При заболеваниях, протекающих по типу пищевого отравления, достоверность диагноза повышается при обнаружении той же культуры в пищевом продукте.

24.2.2.6. Возбудители оппортунистических микобактериозов

Микобактериозы — заболевания, связанные с условно-патогенными микобактериями. По клинической картине эти заболевания похожи на легочный туберкулез. Однако встречаются и внелегочные формы. В отличие от возбудителя туберкулеза условно-патогенные (нетуберкулезные) микобактерии вызывают оппортунистическую инфекцию. Среди возбудителей микобактериозов наиболее часто встречаются M. avium, M. avium complex, M. kansasii, M. fortuitum, M. chelonae, M. marinum, M. ulcerans. По своим морфологическим и физиологическим признакам они схожи с другими микобактериями, то есть являются кислотоустойчивыми полиморфными палочками, которые культивируются на среде Левенштейна–Йенсена. По пигментообразованию, характеру и скорости роста их делят на четыре группы:

1 — фотохромогенные микобактерии, которые при выращивании на свету приобретают желто-оранжевый пигмент. К ним относится M. kansasii;

2 — скотохромогенные микобактерии, которые медленно растут на питательных средах, образуя ярко-оранжевый пигмент независимо от наличия света. К ним относятся M. scrofulaceum, M. gordonae;

3 — нефотохромогенные микобактерии, культуры которых не пигментированы или имеют слабый желтовато-оранжевый оттенок. Представителями этой группы являются микобактерии MAC-комплекса;

4 — быстрорастущие микобактерии, культуры которых можно получить в течение одной недели. Это M. smegmatis, M. fortuitum, M. phlei.

Лабораторная диагностика микобактериозов проводится бактериологическим методом путем посева исследуемого материала на среду Левенштейна–Йенсена. Идентификация выделенной культуры

проводится по многочисленным культуральным, биохимическим и другим тестам, в том числе по росту в разных температурных диапазонах от 22° до 52°С и определении амидазной активности.

Для подтверждения диагноза «микобактериоз» необходимо повторное многократное выделение одного и того же штамма возбудителя при условии, что микобактерии туберкулезного комплекса не были обнаружены.

Оппортунистические микобактериозы следует отличать от вторичных инфекций, которые развиваются у больных хроническими заболеваниями, онкологических больных, при неправильном приеме антибиотиков и других неблагоприятных условиях. Особенно часто вторичные микобактериозы развиваются у больных СПИДом не фоне иммунодефицита, что дало возможность назвать их СПИД-ассоциированными или СПИД-индикаторными инфекциями.

По сравнению с туберкулезными микобактериями возбудители оппортунистических микобактериозов в целом менее чувствительны к противотуберкулезным химиотерапевтическим препаратам. Для лечения этих заболеваний рекомендуются: рифампицин, пиразинамид, стрептомицин, этамбутол, этионамид, амикацин. При этом необходим индивидуальный выбор антибиотиков.

24.2.2.7. Возбудители оппортунистических микозов

К ним относится группа микозов, которые вызываются условно-патогенными грибами из родов Aspergillus, Candida, зигомицеты, Mucor и др. Некоторые из них, например Candida (рис. 24.1), входят в состав нормальной микрофлоры организма человека. Однако чаще всего они осложняют такие заболевания, как диабет, лейкоз, лимфосаркома, иммунодефициты, включая СПИД, а также проявляют свое патогенное действие в ассоциациях с условно-патогенными бактериями у лиц, получающих антибиотики широкого спектра действия, особенно тетрациклины, кортикостероиды, цитостатики и лучевую терапию. Возникающая при этом инфекция может быть локальной (аспергиллез легких, аспергиллезный отит, кандидоз полости рта) и генерализованной (кандидозный сепсис). В любом случае состояние макроорганизма оказывает определяющее действие на характер развития инфекционного процесса.

Сами по себе упомянутые грибы, как правило, не могут вызвать моноинфекцию. Обычно они вызывают инфекционный процесс в ассоциациях с условно-патогенными бактериями. Наряду с условно-патогенными бактериями в таких микробиоценозах могут присутствовать сапрофиты и безусловно-патогенные виды. Для реализации патогенного потенциала микробиоценозов, в том числе содержащих условно-патогенные грибы, необходимы соответствующие условия, заключающиеся в наличии иммунодефицита. В норме переходу тран-

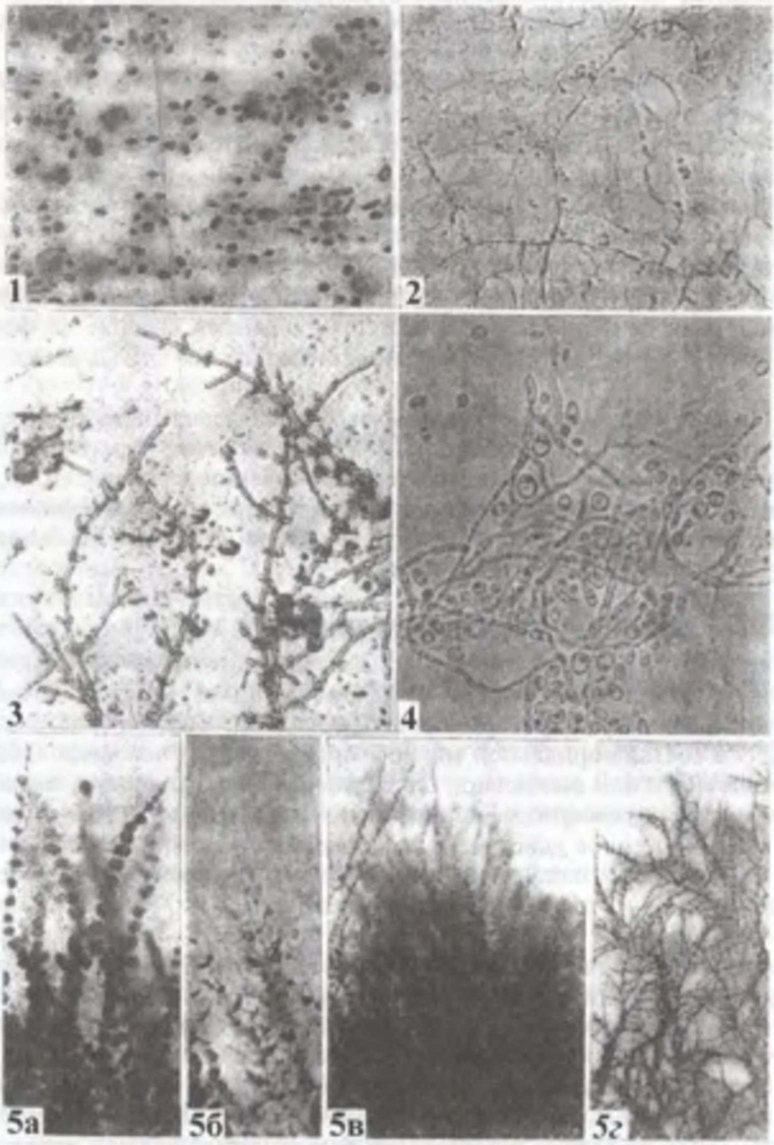


Рис. 24.1. Дрожжевые грибы рода Candida:
1 — Candida albicans в мокроте; *2* — Candida albicans в кожной чешуйке; *3* — псевдомицелий Candida albicans; *4* — хламидоспоры и псевдомицелий Candida albicans; *5* — типы роста дрожжеподобных грибов рода Candida: mycotorula (*а*), mycotoruloides (*б*), candida (*в*), mycocandida (*г*)

зиторного носительства условно-патогенных грибов в полостях и на слизистых оболочках в микотические поражения препятствуют механизмы антифунгальной защиты организма.

Выделяют три уровня морфологических структур, выполняющих защитную роль. К ним относятся надэпителиальный (просветочный), эпителиальный и соединительнотканный. Эпителиальный уровень участвует в рецепторно-лигандных взаимодействиях, между рецепторами эпителиоцитов и лигандами грибов, обеспечивая адгезию с последующей колонизацией слизистых оболочек. При этом необходимо иметь в виду, что рецепторы эпителиоцитов в норме заняты представителями нормальной микрофлоры. Поэтому грибы, проникшие извне в определенные биотопы организма, должны обладать антагонистическими свойствами по отношению к данной микрофлоре, чтобы освободить соответствующие локусы для адгезии и последующей инвазии возбудителя в глубину тканей.

Таким образом, проявление условно-патогенными грибами патогенных свойств в составе микробиоценоза связано с их способностью к адгезии, колонизации и инвазии, и непременно с наличием иммунодефицита в поражаемом ими организме человека. Исключение составляют дрожжеподобные грибы рода Candida, которые как представители нормальной микрофлоры изначально присутствуют в организме человека, вследствие чего для манифестирования эндогенной инфекции они нуждаются только в возникновении иммунодефицитного состояния в организме.

Ранняя диагностика оппортунистических микозов весьма сложна. Она проводится путем комплексных микробиологических, иммунологических и патоморфологических исследований, позволяющих составить определенное представление о завязке инфекционного процесса.

Кандидозы. Возбудителями кандидозов являются различные виды рода Candida. Наиболее часто заболевание вызывает C. albicans (см. рис. 24.1 — (1), (2)).

Морфология, физиология. Аспорогенные дрожжи рода Candida — диморфные грибы, утерявшие фазу телеоморфы и закрепившиеся в гаплоидном состоянии. Они близки к дрожжам — сахаромицетам. В патологическом материале и в культурах образуют овальные почкующиеся дрожжевые клетки и псевдомицелий. C. albicans хорошо растет на обычных питательных средах при 20°С и 37°С.

На основании культуральных, микроскопических и биохимических характеристик дифференцируют более 100 видов рода Candida, из которых лишь немногие (менее 10) вызывают кандидозы (C.tropicalis и др.).

Антигены. Гликопротеины клеточных стенок дрожжеподобных грибов рода Candida определяют их видовую антигенную специфич-

ность. Штаммы C. albicans подразделяют на 3 серовара — A, B и C. Спорообразующие сахаромицеты и аспорогенные дрожжи рода Candida имеют общие антигены.

Патогенность. Факторами патогенности дрожжеподобных грибов рода Candida являются гемолизины, эндоплазмокоагулаза, липиды, полисахариды, некоторые гидролазы, эндотоксин.

Патогенез и иммунитет. Дрожжеподобные грибы рода Candida вызывают различные острые и хронические инфекции, имеющие локальный или диссеминированный характер. Заболевания могут развиваться в виде первичных или вторичных инфекций в результате экзогенного или эндогенного инфицирования. Широко распространен кандидоз полости рта, типичный для новорожденных, а также для лиц, страдающих тяжелыми заболеваниями разной этиологии (злокачественные опухоли и др.). Кроме того, нередко встречаются кандидозный вульвовагинит, развивающийся в период беременности, при диабете; бронхолегочный кандидоз как вторичная инфекция на фоне рака легких, бронхоэктатической болезни, СПИДа и других заболеваний; интертригинозный кандидоз, при котором поражения локализуются в крупных складках кожи (межъягодичных, под молочными железами) или на руках при их частом увлажнении и мацерации; хронический кандидоз кожи и слизистых оболочек.

В связи с развитием микробиологической промышленности и, прежде всего, производства белка, основанного на использовании дрожжеподобных грибов рода Candida, заметно возросло число аллергических заболеваний в соответствующих регионах нашей страны. Аллергеном в этом случае является гликопротеин, условно названный паприном, проникающий в организм через дыхательные пути.

К более редким поражениям человека относится кандидозный эндокардит.

Чаще всего кандидозы возникают и развиваются у лиц, длительно принимающих антибиотики широкого спектра действия и гормональные препараты, с выраженными нарушениями микробных биоценозов полости рта, кишечника, а также иммунной системы организма. При кандидозах накапливаются антитела классов IgG, IgM, IgA.

Экология и эпидемиология. Различные виды Candida широко распространены в природе, а C. albicans является представителем нормальной микрофлоры организма человека. Они достаточно устойчивы к воздействию факторов окружающей среды.

Лабораторная диагностика. Проводят микроскопические, культуральные, биохимические и серологические исследования. Микроскопируют патологический материал в целях обнаружения почкую-

щихся дрожжевых клеток или элементов псевдомицелия. Культуры из патологического материала получают на агаре Сабуро или сусло-агаре при 20 и 37°С.

Грибы рода Candida на 2–3-й день после посева образуют мелкие выпуклые колонии, которые сливаются в мощные образования, врастающие в питательную среду. Идентификацию грибов рода Candida проводят на основании данных микроскопии патологического материала, культуральных признаков, биохимической активности, типов роста филаментации. Образование нитей (филаментация) происходит за счет псевдомицелия, который отличается от истинного тем, что не имеет общей оболочки и перегородок, а состоит из длинных и тонких клеток. Псевдомицелий возникает путем последовательного бокового или концевого почкования (см. рис. 24.1 — (3), (4)).

Серодиагностику проводят с помощью реакций агглютинации, РСК, преципитации, ИФА, иммуноэлектрофореза и др. Для кожно-аллергических проб применяют различные аллергены.

Профилактика и лечение. В качестве специфических профилактических средств всегда используют убитые вакцины (в том числе приготовленные из аутоштаммов).Из химиотерапевтических средств применяют антибиотики — полиены (нистатин, леворин, амфотерицин В и др.), некоторые производные имидазола (клотримазол, или канестен), 5-флуцитозин (анкотил), флуконазол и др.

Аспергиллезы. Известно 150 видов и подвидов аспергиллов. Многие из них являются патогенными для растений, некоторых насекомых и домашних животных. Для человека наиболее патогенен вид Aspergillus fumigatus, хотя и другие виды этого рода могут вызвать заболевания.

Морфология, физиология. Аспергиллы относятся к так называемым головчатым плесеням. При росте на среде Сабуро или сусло-агаре при 20°С они образуют септированный мицелий с конидиофорами, несущими стеригмы и конидиоспоры серого, зеленого, сине-зеленого, черного или иного цветов. В тканях, экссудате, мокроте аспергиллы выявляются в виде септированных ветвящихся гиф.

Аспергиллы — строгие аэробы, хорошо растут на различных питательных средах при pH 6,0–6,5. Оптимальными источниками углерода являются олигосахариды, источниками азота — аммонийные соли, некоторые аминокислоты и др. A. flavus является токсигенным, способным образовывать экзотоксины (флавотоксины) в пищевых продуктах.

Антигенные свойства аспергиллов мало выражены, однако споры и мицелий грибов могут быть аллергенами.

Патогенность. Конидии и гифальные клетки аспергиллов могут вызывать соответствующие аспергиллезные поражения травмированной роговицы, обожженных тканей, раневых поверхностей.

Факторами патогенности являются некоторые гидролазы, небелковые экзотоксины и др.

Патогенез. Аспергиллезы развиваются преимущественно у лиц с иммунодефицитными состояниями или с заметно нарушенной устойчивостью к инфекции на фоне лейкемии, метастазирующих опухолей, лимфоматозных заболеваний. Гриб проникает in vivo аэрогенно. Нормальные макрофаги могут захватить конидии и способствовать диссеминации гриба в организме, а гифы чувствительны к губительному действию нейтрофилов и моноцитов. Аспергиллез может быть инвазивным (легочный, диссеминированный), неинвазивным (аспергиллема, локальный внелегочный) и аллергическим (астматический, альвеолит и др.).

Иммунитет. У людей, инфицированных аспергиллами, может развиться ГЗТ; в сыворотке крови выявляются иммуноглобулины классов IgG и IgE.

Экология и эпидемиология. Аспергиллы широко распространены в природе по всему миру. Они устойчивы во внешней среде. Случаи аспергиллеза описаны в различных регионах Земного шара. Специфическая профилактика отсутствует. Аспергиллезы трудно поддаются лечению, особенно легочные формы на фоне развивающейся аллергии, что в одних случаях приводит к пневмонии, в других — к бронхиальной астме.

Лабораторная диагностика. Проводят микроскопию мокроты на наличие септированных ветвящихся гиф или «пробок» из мицелия. Могут выявляться конидиофоры с конидиями при аспергиллеме. Получают также чистые культуры при посеве патологического материала на агар Сабуро или сусло-агар. Ставят некоторые серологические реакции, например иммунодиффузии, или для выявления IgE проводят радиоаллергосорбентный тест.

Зигомикозы (мукороз, фикомикоз). Зигомикозы вызываются низшими грибами из класса зигомицетов. При этом наиболее часто среди них встречаются Rhizopus и Mucor. Грибы культивируются на обычных питательных средах, на которых образуются колонии, темнеющие в период плодоношения.

Входными воротами инфекции служат дыхательные пути и реже травмированные участки кожи и слизистых оболочек. Фикомицеты чаще всего поражают людей, страдающих диабетом, лейкозом, лимфомой и другими тяжелыми хроническими заболеваниями, с ослабленной иммунной системой организма. При прорастании в стенки кровеносных сосудов фикомицеты вызывают тромбозы (например, в параназальных синусах, легких, желудочно-кишечном тракте). Отдельные виды фикомицетов обладают активными ферментными комплексами, ускоряющими реакции свертывания крови и тем самым индуцирующими тромбообразование.

Лабораторную диагностику проводят путем микроскопического и культуральных исследований. В патологическом материале выявляется несептированный мицелий.

Специфическая профилактика отсутствует. Из химиотерапевтических средств рекомендуют амфотерицин В, 5-флуцитозин, некоторые производные имидазола (дактарин) и др.

Пневмоцистоз. Возбудителем пневмоцистоза, или пневмоцистной пневмонии, является Pneumocystis carinii, который относится к группе бластомицетов, т.е. почкующихся дрожжевых микроорганизмов.

Морфология, физиология. В мокроте и легочной ткани (при биопсии или аутопсии) можно выявить три стадии развития P. carinii: 1) цисты (пневмоцисты), 2) плеоморфная форма (трофозоиты) и 3) незрелые цисты (прецисты). Цисты располагаются в легочной ткани или в респираторных секретах. В них содержится до 8 овальных интрацистных структур (телец) — спорозоитов. Иногда вне цист обнаруживаются плеоморфные трофозоиты, которые располагаются группами в ассоциации с цистами. Прецисты овальные по форме, от 3 до 5 мкм в диаметре, являются промежуточной стадией между трофозоитами и цистами.

Независимо от стадии развития в окрашенных гистологических препаратах P. carinii бывает представлен одиночными или почкующимися клетками.

В чистой культуре на питательных средах данный микроорганизм пока не получен, вследствие чего отсутствует информация о его возможных стадиях развития in vitro, а также об антигенных свойствах.

Патогенность. P. carinii — условно-патогенный микроорганизм. У людей с нормальной иммунной системой инфекция не проявляется. При иммунодефицитах развивается пневмоцистная пневмония (пневмоцистоз) — главная причина смертности лиц, страдающих СПИДом.

Патогенез. У новорожденных и более старших детей заболевание протекает в двух формах: эпидемической и спорадической. Первая развивается медленно в течение 4–6 недель и в 20–50% случаев заканчивается летально.

Спорадическим пневмоцистозом чаще болеют дети, страдающие агамма- или гипогаммаглобулинемией. В противоположность эпидемической форме в этих случаях отмечается острое начало. Заболевание длится месяцами, прежде чем наступит дыхательная недостаточность, заканчивающаяся в 100% случаев летальным исходом.

Пневмоцистоз может развиться у лиц, получающих иммунодепрессанты при лечении рака, болезни Ходжкина и других лимфом или при трансплантации органов.

Пневмоцистная пневмония развивается более чем у 80% лиц, страдающих СПИДом. У 60% таких больных пневмоцистоз является первоначальной оппортунистической инфекцией с летальным исходом.

Экология и эпидемиология. Гриб широко распространен в природе, выявляется у крыс, мышей, собак (обычно без проявления заболевания). Латентная инфекция, вызванная P. carinii, распространена среди людей. Предполагается, что инфекция развивается в результате вдыхания цистных форм паразита. Через пищевые продукты и воду инфекция не передается. P. carinii может передаваться трансплацентарным путем.

Лабораторная диагностика. Диагноз пневмоцистоза может быть поставлен лишь при бесспорной идентификации P. carinii в патологическом материале. Пневмоцистоз протекает в виде моноинфекции или смешанной инфекции, например с криптококкозом, цитомегаловирусной инфекцией, туберкулезом.

Для окраски P. carinii в патологическом материале используют краску Романовского–Гимза или акридиновый оранжевый.

Серологическая диагностика P. carinii возможна при использовании непрямого метода иммунофлюоресценции и так называемого ELISA-метода (англ. *enzime-linked immunosorbent assay*). При этом особая трудность состоит в дифференциации антител, имеющихся у здоровых людей контрольной группы, от антител, появляющихся при пневмоцистной пневмонии.

Профилактика и лечение. Специфическая профилактика пневмоцистной пневмонии отсутствует. Из химиотерапевтических средств рекомендуются пентамидин изотионат, котримоксазол (комбинация сульфаметоксазола и триметоприма), дапсон (диаминодифенилсульфон) в комбинации в триметопримом и др. Эти же лекарственные средства рекомендуются и для химиопрофилактики пневмоцистоза у больных СПИД.

24.3. ЯТРОГЕННЫЕ (ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫЕ) ИНФЕКЦИИ

Случаи развития заболеваний или пограничных с ними состояний в результате оказания медицинской помощи были известны врачам давно. Недаром одна из древнейших врачебных заповедей гласит: Primum non nocere (прежде всего не навреди). В последующем болезни, связанные с медицинской помощью, которая оказывается больным в стационарах, амбулаторно-поликлинических учреждениях и домашних условиях получили название *ятрогений* (греч. *ятрос* — врач, *генус* — происхождение). Под ятрогенными (синонимы: внутрибольничные, госпитальные, назокоминальные) инфекциями в на-

стоящее время понимают инфекционные заболевания, заражение которыми происходит при оказании медицинской помощи. Ятрогенные инфекции следует отличать от тех, при которых заражение человека происходит во внебольничных условиях, а болезнь проявляется через некоторое время после поступления больного в стационар по поводу другого заболевания.

Ятрогенные инфекции возникли в те далекие времена, когда были проведены первые хирургические операции. В XVII, XVIII и первой половине XIX в. послеродовая септическая лихорадка развивались у 50–60% пациентов, давая почти 100% летальность. Установление микробной природы раневых и послеродовых осложнений (Л. Пастер) и разработка методов антисептики (И. Земмелвейс, Н. Пирогов, Д. Листер), а затем асептики и других противоэпидемических мероприятий привели к резкому сокращению числа ятрогенных инфекций. В конце XIX и первой половине XX в. ятрогенные инфекции регистрировались только у 3–5% госпитализированных больных.

Новый период нарастания числа ятрогенных инфекций наступил в начале 50-х годов XX в. и продолжается по настоящее время. Для него характерно резкое увеличение частоты и тяжести этих инфекций, распространение их в медицинских учреждениях всех профилей, расширение видового состава возбудителей и нозологических форм заболеваний.

Причины сложившейся ситуации разнообразны. К ним следует отнести следующие:

1. Неоправданно широкое, часто нерациональное применение антибиотиков, которое привело к распространению множественно устойчивых к химиотерапевтическим препаратам форм бактерий.

2. Увеличение среди населения групп повышенного риска, связанного с широким внедрением в медицинскую практику методов диагностики с нарушением целостности кожных и слизистых покровов, расширением спектра и тяжести оперативных вмешательств, частым использованием лекарственных средств, подавляющих иммунную систему, увеличением в популяции людей лиц пожилого и старческого возраста и учащением количества инфекционных и неинфекционных заболеваний.

3. Расширение циркуляции микроорганизмов в больничных учреждениях, увеличение числа контактов с медицинскими работниками и объектами больничной среды, контаминированными микроорганизмами.

Ятрогенные инфекции ухудшают показатели медицинской помощи населению, сужают возможности госпитализации больных, вызывают у населения недоверие к деятельности медицинских работников, приводят к огромным трудовым потерям и большим дополнительным финансовым расходам на социальное обеспечение.

Этиология ятрогенных инфекций характеризуется как общими для всех инфекций, так и специфическими признаками. К ним относятся непрерывное изменение состава возбудителей и их удельного веса в развитии инфекций. Эти изменения приводят к формированию и широкому распространению в больничных стационарах особых штаммов и эковаров возбудителей, названных *больничными*, или *госпитальными*. Они отличаются от внебольничных множественной резистентностью к антибиотикам, сниженной чувствительностью к антисептикам и дезинфектантам, высоким полиморфизмом популяций, относительно высокой устойчивостью к конкурентному действию аутохтонной микрофлоры, широким и вариабельным наборам факторов вирулентности, выраженной способностью к колонизации кожи и слизистых оболочек и инвазивностью.

Больничные эковары бактерий формируются из внебольничных под влиянием факторов больничной среды. В отличие от внебольничных они хорошо адаптированы к обитанию и обеззараживающим мероприятиям проводимых в больничной среде (отсюда термин *экологические варианты — эковары).* Наряду с этим они более устойчивы к неспецифическим факторам защиты, чем внебольничные штаммы.

Наряду с больничными эковарами возбудителями ятрогенных инфекций являются облигатно-патогенные бактерии и вирусы, вызывающие гепатит В, ВИЧ-инфекцию, грипп, острые респираторные и кишечные вирусные инфекции, аденовирусный конъюнктивит, локальные и генерализованные формы герпетической инфекции, а также хламидиальные и микоплазменные инфекции, дерматомикозы и многие другие.

Однако возбудителями большей части ятрогенных инфекций являются условно-патогенные бактерии. Это больничные и внебольничные эковары.

Заражение людей больничными эковарами происходит в основном экзогенно в результате медицинских вмешательств и проникновения возбудителя контактным или аэрозольным путем в операционные и перевязочные помещения. Теми же путями они заносятся в ожоговые и травматические раны, открытые гнойно-воспалительные очаги, ткани, полости и тракты с нарушенной целостностью слизистой оболочки.

Заражение людей больничными штаммами также происходит через дефекты кожи и слизистых оболочек путем аутоинфицирования из мест носительства (нос, носоглотка, промежность, руки, волосы). Больничные эковары условно-патогенных бактерий являются представителями ауто- и аллохтонной микрофлоры самого организма, а в случае сапронозов значительно реже являются обитателями окру-

жающей среды. Возможность их размножения на объектах внешней среды затруднена, а сроки переживания в ней ограничены. В случае скрупулезного выполнения антимикробных мероприятий обсемененность объектов больничной среды может быть сведена до безопасных количеств.

Ятрогенные инфекции, вызванные внебольничными эковарами, в основном относятся к эндогенным. Они возникают при заносе большого количества представителей нормальной микрофлоры во внутреннюю среду организма через поврежденную кожу и слизистые оболочки, особенно на фоне снижения напряженности естественного иммунитета и подавления способности формирования эффективного иммунного ответа на антигены возбудителя. Нередки случаи экзогенного инфицирования и аутоинфицирования, чаще метастатического типа.

К первым относится массовое внутрибольничное заражение детей СПИДом в г. Элисте в середине 80-х годов в результате использования нестерильных шприцев или растворов.

В развитии ятрогенных инфекций, вызванных условно-патогенными микроорганизмами, решающая роль принадлежит медицинским вмешательствам. Нозологическая форма и состав возбудителей зависят от типа и локализации вмешательства. К ним относятся:

1) операции, связанные с инфицированием кожных ран, слизистых оболочек, а также с инфекционными осложнениями на оперированном органе,

2) инъекции лечебных и профилактических препаратов, в результате которых возникают инфильтрат, абсцесс, флегмона,

3) переливание крови и ее заменителей, парентеральное питание, катетеризация сосудов, гемодиализ, гемадсорбция, которые могут привести к тромбозу сосудов, абсцессу мягких тканей,

4) катетеризация мочевого пузыря, бужирование уретры, цистоскопия, которые могут привести к уретриту, циститу, пиелонефриту,

5) аппаратное искусственное дыхание, трахеостомия, интубация, бронхоскопия, промывание бронхов, отсасывание слизи, аэрозольное введение растворов антисептиков и антибиотиков, в результате которых могут возникнуть бронхит, пневмония, ларингит, гангрена легкого, плеврит и даже сепсис,

6) стоматологические манипуляции, которые могут привести к развитию стоматита, абсцесса и флегмоны мягких тканей, остеомиелиту челюсти, синуситу, абсцессу мозга,

7) аборты, эндоскопические и мануальные исследования в области половой сферы, могут явиться причиной возникновения эндометрита, сальпингоофорита, нагноения промежности.

Иммунитет. При нормальном функционировании факторов неспецифической защиты организма ятрогенные инфекции развиваются редко даже в случае проникновения возбудителей во внутреннюю среду организма через поврежденные покровы. Снижение местной защиты и общей неспецифической резистентности резко повышает риск развития инфекционного заболевания.

Способность иммунной системы к развитию иммунного ответа на антигены условно-патогенных бактерий — возбудителей ятрогенных инфекций у здоровых людей развита в меньшей степени, чем на антигены облигатно-патогенных микроорганизмов. Тем не менее при нормальном статусе иммунной системы ятрогенные инфекции развиваются редко. Для их возникновения необходимы высокая доза возбудителя и развитие иммунодефицита в течение ятрогенной инфекции, которое может привести к генерализации процесса, переходу его в хроническую форму.

Лабораторная диагностика. В случае возникновения инфекционного заболевания (осложнения) во время пребывания больного в стационаре или после посещения поликлиники, а также вслед за медицинскими вмешательствами необходимо установить ятрогенную природу заболевания.

Инфекцию считают ятрогенной, если заболевание возникло после посещения поликлиники, где больной подвергался медицинским вмешательствам через промежуток времени не менее минимального инкубационного периода болезни. Для оппортунистических инфекций этот срок равен 2–4 дням, для инфекций, вызванных облигатно-патогенными микроорганизмами, он различен и определяется характером инфекционного заболевания.

Более надежные данные о ятрогенности возникшего заболевания дает микробиологическое исследование. Принципы его такие же, как при установлении возбудителя любого инфекционного заболевания. Однако в данном случае исследованию подвергается не только больной, но и медицинские работники и другие предполагаемые источники инфекции, включая объекты окружающей среды, которые могли послужить факторами передачи возбудителя. Выделение от больного больничного эковара, даже без установления источника и путей передачи возбудителя, является достаточным основанием для отнесения данного инфекционного заболевания к ятрогенным.

Микробиологический контроль за внутрибольничными инфекциями является обязательной частью надзора за лечебно-профилактическими учреждениями, в первую очередь за больничными стационарами. Он включает исследование больных и медицинского персонала на бактерионосительство, объектов окружающей среды и лекарственных препаратов с целью установления их микробной контаминации, прежде всего больничными эковарами.

Вопросы для самоконтроля

1. Определите задачи клинической микробиологии.

2. Дайте определение и характеристику условно-патогенным микроорганизмам.

3. Каковы особенности этиологии, клинической картины и микробиологической диагностики оппортунистических инфекций?

4. Дайте микробиологическую характеристику бактериемии и сепсису, оппортунистическим гнойно-воспалительным, бронхолегочным, урологическим инфекциям, микобактериозам, микозам, пневмоцистозам.

5. Каковы причины развития и принципы диагностики дисбактериоза?

6. Перечислите особенности этиологии ятрогенных инфекций и больничных эковаров бактерий.

7. Назовите причины нарастания и широкого распространения ятрогенных инфекций и основы их диагностики.

ГЛАВА 25

МИКРОБИОЛОГИЯ И ИММУНОЛОГИЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Полость рта человека представляет собой уникальную экологическую систему для самых разнообразных микроорганизмов, формирующих аутохтонную (постоянную) микрофлору. Богатство пищевых ресурсов, постоянная влажность, оптимальные значения pH и температуры создают благоприятные условия для адгезии, колонизации и размножения различных микробных видов. Многие условно-патогенные микроорганизмы из состава нормальной микрофлоры играют существенную роль в этиологии и патогенезе кариеса, заболеваний пародонта и слизистой оболочки рта.

Однако наличие в полости рта секрета слюнных желез — слюны и ее бактерицидными компонентами (иммуноглобулины, лизоцим, ферменты), а также мощного эпителиального покрова, ограничивает возможности оральных микроорганизмов вызывать патологические изменения. В ряде случаев факторы защиты слизистой оболочки рта не могут воспрепятствовать патогенному воздействию представителей нормальной микрофлоры. В первую очередь это касается иммунодефицитных состояний, при которых дефектность отдельных (гуморальных и клеточных) механизмов иммунитета способствует активации деятельности условно-патогенных видов.

Характер протекающих в полости рта инфекций определяется ее анатомо-физиологическими особенностями. Чаще встречаются смешанные инфекции, вызванные ассоциациями бактерий, спирохет, грибов, вирусов (кариес, гингивит, стоматиты).

Сравнительная легкость попадания бактерий со слизистой оболочки рта и из местных нагноительных очагов (пульпит) в кровяное русло определяет довольно высокую частоту орального сепсиса. Наличие кариозных полостей, дёсневых карманов и др. способствует персистенции патогенных микроорганизмов и обусловливает довольно высокую частоту формирования очагов хронической инфекции (например, стрептококковой) с последующей аллергизацией организма и высокой степенью риска развития общих аутоиммунных заболеваний (например, ревматизма). Недостаточность или извращенный характер иммунологических реакций в сочетании с длительной пер-

систенцией микробных ассоциаций, вызывающих повреждения тканей полости рта, приводят к развитию наиболее тяжелых патологических процессов — пародонтопатий. Вместе с тем полость рта играет роль входных ворот для возбудителей многих инфекционных заболеваний, частично проявляющихся в ней.

В полости рта встречаются все типы аллергических иммунопатологических реакций, поскольку со слизистой оболочки идет быстрое всасывание чужеродных антигенов-аллергенов.

25.1. НОРМАЛЬНАЯ МИКРОФЛОРА ПОЛОСТИ РТА

В настоящее время описано несколько сотен видов микроорганизмов, составляющих нормальную микрофлору полости рта. В ее состав входят бактерии, вирусы, грибы и простейшие.

Среди микробов полости рта встречаются аутохтонные и аллохтонные виды — иммигранты из других биотопов хозяина (носоглотки, кишечника и др.) и заносная микрофлора из окружающей среды. Аутохтонную микрофлору подразделяют на облигатную, которая постоянно обитает в полости рта, и временную — транзиторную, в составе которой чаще встречаются патогенные или условно-патогенные бактерии (табл. 25.1).

Основная масса грамположительных кокков полости рта представлена гетерогенной группой зеленящих маловирулентных стрептококков, которые принимают активное участие в процессах, приводящих к поражениям твердых тканей зуба и пародонта. В эту группу входят Streptococcus mutans, S. sanguis, S. mitis, S. salivarium. Они отличаются друг от друга по способности ферментировать углеводы и образовывать перекись водорода. Сдвиг pH в кислую сторону приводит к декальцинации зубной эмали. Важна также способность стрептококков синтезировать из сахарозы полисахариды. При этом глюкозная часть молекулы превращается в глюкан (декстран), а фруктозная часть — в леван (фруктан). Нерастворимый декстран способствует образованию зубных бляшек, а растворимые глюкан и леван могут служить источниками дальнейшего кислотообразования даже при отсутствии поступления углеводов извне. Все виды зеленящих стрептококков встречаются в полости рта в различных количественных соотношениях, которые зависят от диеты, гигиены полости рта и других факторов.

Вторая группа грамположительных кокков — пептококки. Их сахаролитическая активность слабо выражена, однако они активно разлагают пептоны и аминокислоты. Чаще всего пептококки встречаются в ассоциациях с фузобактериями и спирохетами при кариесе пульпите пародонтите абсцессах челюстно-лицевой области.

Таблица 25.1

Бактерии, входящие в состав зубного налета

Морфологические формы	Отношение к окраске по Граму			
	грамположительные микроорганизмы		грамотрицательные микроорганизмы	
	Аэробы, факультативные анаэробы	Анаэробы	Аэробы, факультативные анаэробы	Анаэробы
Кокки	Стрептококки	Пептококки Стрептококки	Нейссерии	Вейллонеллы
Палочки	Актиномицеты, лактобактерии, коринебактерии	Бифидобактерии — пропионибактерии	–	Бактероиды, фузобактерии, лептотрихи, порфиромонасы
Спирохеты	–	–	Лептоспиры	Трепонемы, боррелии

Грамотрицательные анаэробные кокки представлены родом Veillonella. Они являются постоянными обитателями полости рта человека и животных. Вейллонеллы не обладают сахаролитическими свойствами в отношении моно- и дисахаридов, но достаточно хорошо разлагают лактат, пируват, ацетат и другие углеводы до CO_2 и H_2O. Упомянутые вещества могут подавлять рост других микроорганизмов, способствуя повышению pH среды. Концентрация вейллонелл в слюне приблизительно такая же, как зеленящих стрептококков. За счет катаболизма образованной зеленящими стрептококками молочной кислоты вейллонеллы могут оказывать противокариозное действие.

Грамположительные палочки представлены в полости рта родом Lactobacillus. Они разлагают углеводы с образованием большого количества молочной кислоты, сохраняя жизнеспособность при низких значениях pH среды. Это является одним из факторов, способствующих развитию кариеса зубов у человека. Наиболее частым представителем лактобактерий гомоферментного типа является L. casei, присутствующая в слюне человека.

Грамотрицательные анаэробные и микроаэрофильные бактерии чаще всего относятся к бактероидам. Они ферментируют сахара до газа, а пептоны — с образованием аминокислот, часто имеющих дурной запах, и не имеют каталазы. К ним относятся три рода: Bacteroides, Fusobacterium, Leptotrichia.

Наиболее часто встречаются два вида бактероидов — B. melaninogenicus, B. gingivalis, являющиеся также обитателями толстой кишки. Они характеризуются низкой сахаролитической активностью, однако глюкозу разлагают с образованием смеси кислот, причем pH среды остается достаточно высоким (5,5–6,2). B. melaninogenicus на кровяном агаре формирует черные колонии. Для роста на питательных средах этим микроорганизмам необходим гематин и витамин K. Данный вид является у взрослых постоянным обитателем десневых карманов. Наличие протеолитических ферментов у бактероидов (коллагеназы, хондроитинсульфатазы, гиалуронидазы и др.) имеет большое патогенетическое значение в развитии заболеваний пародонта.

Род Fusobacterium представлен палочками веретенообразной формы, составляющими наряду с бактероидами аутохтонную микрофлору полости рта. Они образуют из пептона или глюкозы молочную кислоту. Фузобактерии обитают в десневых карманах в ассоциации со спирохетами.

Представители рода Leptotrichia (L. buccalis) имеют вид попарно расположенных зернистых палочек, часто нитевидной формы. Они не образуют индол и сероводород, ферментируют глюкозу с образованием большого количества молочной кислоты, что приводит к понижению pH среды до 4,5. При заболеваниях пародонта количество упомянутых бактерий в полости рта возрастает. Род Propionibacterium включает в себя анаэробные бактерии, которые при разложении глюкозы образуют пропионовую, а также уксусную кислоты.

В полости рта встречаются также роды Actinomyces и Bifidobacterium. Первые ферментируют углеводы с образованием кислых продуктов без выделения газа. Конечными продуктами расщепления глюкозы являются молочная, уксусная, муравьиная и янтарная кислоты. Обладают слабой протеолитической активностью. Актиномицеты находятся на слизистой оболочке рта, составляют строму зубного камня и входят в состав зубного налета. Наряду с этим они содержатся в кариозных полостях зубов, в патологических десневых карманах, в протоках слюнных желез. Представители данного рода могут принимать участие в образовании зубных бляшек и в развитии кариеса зубов, а также заболеваний пародонта. Особенно часто при данных патологических процессах встречается A. viscosus и A. israelii. A. viscosus принимают участие в образовании поддесневого камня.

В полости рта встречаются бактерии рода Corynebacterium (*см. 20.3.2*). Характерной особенностью коринебактерий является их способность снижать окислительно-восстановительный потенциал, создавая тем самым условия для роста анаэробов. При заболеваниях пародонта они встречаются в ассоциациях с фузобактериями и спирохетами.

Спирохеты, обитающие в полости рта, относятся к трем родам: Treponema, Borrelia, Leptospira.

Трепонемы полости рта представлены видами T. macrodentium, T. denticola, T. orale. Они отличаются друг от друга по образованию молочной, уксусной и других органических кислот и сбраживанию углеводов.

Боррелии полости рта представлены B. buccalis — крупными спирохетами, которые часто встречаются в ассоциациях с фузиформными бактериями. Основным местом обитания B. buccalis являются дёсневые карманы.

В полости рта встречаются микоплазмы — M. orale трех биоваров и M. salivarium. Они гидролизуют аргинин, не ферментируют глюкозу и отличаются друг от друга по некоторым биохимическим признакам (*см. 20.10*).

25.2. МИКРОБНАЯ КОЛОНИЗАЦИЯ ПОЛОСТИ РТА

Для колонизации полости рта человека микроорганизмы должны прикрепиться к поверхности слизистой оболочки или зуба. Первый этап адгезии эффективнее происходит у бактерий с повышенной гидрофобностью. В частности, оральные стрептококки адсорбируются как на поверхности зубов, так и на эпителиальных клетках слизистой оболочки. Значительную роль в процессе адгезии играют фимбрии или пили, имеющиеся у многих оральных микроорганизмов. Особенности строения адгезинов во многом определяют локализацию микробов в полости рта. Так, Streptococcus sanguis достаточно прочно фиксируются на поверхности зуба, а Streptococcus salivarium — на поверхности эпителиальных клеток слизистой оболочки.

Прикрепление бактерий к поверхности зуба происходит очень быстро. Многие микробные клетки сами не способны прикрепляться непосредственно к зубной эмали, но могут оседать на поверхности других бактерий, уже адгезировавшихся, образуя связь «клетка к клетке». Оседание кокков по периметру нитевидных бактерий приводит к образованию так называемых «кукурузных початков». Возникновение микробных ассоциаций в разных областях ротовой полости определяется биологическими особенностями обитающих здесь видов, между которыми возникают как синергические, так и антагонистические отношения. Например, молочная кислота, образовавшаяся в результате метаболизма оральных стрептококков и лактобактерий, используется в качестве энергетического ресурса вейллонеллами, что приводит к повышению значения pH среды и может оказывать противокариозное действие. Коринебактерии об-

разуют витамин К — фактор роста многих других бактерий, а дрожжи рода Candida способны синтезировать витамины, необходимые для роста лактобактерий. Последние в процессе своего обмена образуют молочную кислоту, которая, закисляя среду, препятствует адгезии и колонизации дрожжей, что в свою очередь приводит к снижению количества витаминов, необходимых для многих микроорганизмов, и задержке их роста.

Оральные стрептококки являются антагонистами фузобактерий, коринебактерий и др. Этот антагонизм связан с образованием молочной кислоты, перекиси водорода, бактериоцинов. Молочная кислота, образуемая оральными стрептококками, подавляет рост многих микроорганизмов, способствуя тем самым размножению лактобактерий. Коринебактерии, снижая значение окислительно-восстановительного потенциала, создают условия для роста факультативных и строгих анаэробов в аэробных условиях. В десневых карманах, складках слизистой оболочки, криптах уровень кислорода значительно снижен. Это создает благоприятные условия для развития строгих анаэробов — фузобактерий, бактероидов, лептотрихов, спирохет. В 1 мл слюны может содержаться до 100 млн. анаэробных микроорганизмов.

На количественный и качественный состав оральной микрофлоры во многом влияет состав пищи: повышенное количество сахарозы приводит к увеличению доли стрептококков и лактобактерий, в то время как глюкоза таким действием не обладает. Распад пищевых продуктов способствует накоплению в слюне и десневой жидкости углеводов, аминокислот, витаминов и других веществ, используемых микроорганизмами в качестве питательных субстратов. Однако микроорганизмы не исчезают из полости рта даже при кормлении человека через зонд. На состав микрофлоры полости рта и других биотопов во многом влияет состояние иммунной, гормональной, нервной и других систем, применение некоторых лекарственных препаратов, в частности антибиотиков, которые нарушают стабильность микрофлоры. Определенную роль в изменении состава микробных ассоциаций играет гигиена полости рта.

25.3. ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОФЛОРЫ ПОЛОСТИ РТА

В первые месяцы жизни в полости рта ребенка преобладают аэробы и факультативные анаэробы. Это связано с отсутствие у детей зубных рядов, необходимых для существования строгих анаэробов. Среди микроорганизмов, обитающих в этот период в полости рта, преобладают стрептококки, преимущественно S. salivarius, лак-

тобактерии, нейссерии, гемофилы и дрожжи рода Candida, максимум которых приходится на 4-й мес. жизни. В складках слизистой оболочки рта могут вегетировать незначительные количества анаэробов — вейллонеллы и фузобактерии. Прорезывание зубов способствует резкому изменению качественного состава микроорганизмов, которое характеризуется появлением и быстрым нарастанием количества строгих анаэробов. Одновременно происходит распределение микроорганизмов и «заселение» ими полости рта в соответствии с особенностями анатомического строения определенных регионов. При этом образуются многочисленные микросистемы с относительно стабильными микробными популяциями. Спирохеты и бактероиды появляются в полости рта лишь примерно к 14 годам, что связано с возрастными сдвигами гормонального фона организма.

Съемные протезы. Любая форма замещения утраченных зубов всегда сопровождается введением в полость рта инородного тела, что может привести к различным осложнениям. Под базисом съемного протеза почти всегда возникает воспаление слизистой оболочки. Хроническое воспаление наблюдается во всех зонах и в области протезного ложа. Этому способствуют нарушение функции слюноотделения и орошения слизистой оболочки слюной, изменение свойств слюны (pH и ионный состав), повышение температуры на 1–2°C на поверхности слизистой оболочки и др.

Учитывая, что съемными протезами пользуются главным образом лица пожилого возраста со сниженной иммунобиологической реактивностью и сопутствующими заболеваниями (гипертония, сахарный диабет и др.), то изменения в составе оральной микрофлоры являются вполне закономерными. Все это создает условия для развития протезного стоматита. В результате различных причин под протезами создаются условия для возникновения бляшек, похожих на суб- и супрагингивальные. Они представляют собой скопление микроорганизмов в органическом матриксе, в котором также происходит накопление кислоты, снижение pH до критического уровня 5,0. Это способствует усиленному размножению дрожжей рода Candida, играющих важную роль в этиологии протезных стоматитов. Их обнаруживают в 98% случаев на прилегающей поверхности протезов. У 68–94% лиц, пользующихся протезами, возникает кандидоз. Обсеменение слизистой оболочки рта дрожжеподобными грибами может привести к поражению углов рта.

Микроорганизмы со слизистой оболочки рта могут инфицировать желудочно-кишечный тракт и дыхательные пути.

Кроме дрожжеподобных грибов у лиц со съемными протезами в полости рта обнаруживают большое количество других бактерий: кишечной палочки, стафилококков, энтерококков и др.

25.4. ФАКТОРЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ И СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ ПОЛОСТИ РТА

Неспецифические факторы защиты полости рта от кариесогенных и других бактерий обусловлены антимикробными свойствами слюны и барьерной функцией клеток слизистой оболочки и подслизистого слоя. За сутки слюнные железы продуцируют от 0,5 до 2,0 л слюны, которая обладает выраженными бактериостатическими и бактерицидными свойствами благодаря содержащимся в ней гуморальным факторам: лизоциму, лактоферрину, лактопероксидазе, компонентам системы комплемента, иммуноглобулинам *(см. 11.1, 11.6)*. О важной роли лизоцима в местном иммунитете может свидетельствовать учащение инфекционных и воспалительных процессов, развивающихся в полости рта при снижении его активности в слюне.

Лактоферрин — железосодержащий транспортный белок, бактериостатическое действие которого связано с его способностью конкурировать с бактериями за железо. Отмечен синергизм лактоферрина с антителами. Его роль в местном иммунитете полости рта четко проявляется в условиях грудного вскармливания, когда новорожденные получают с молоком матери высокие концентрации этого белка в сочетании с секреторными иммуноглобулинами (SIgA). Лактоферрин синтезируется в гранулоцитах.

Лактопероксидаза — термостабильный фермент, который в комплексе с тиоционатом и перекисью водорода проявляет бактерицидное действие. Он устойчив к действию пищеварительных ферментов, активен в широком диапазоне pH от 3,0 до 7,0. В полости рта блокирует адгезию S. mutans. Лактопероксидаза обнаруживается в слюне детей с первых месяцев жизни.

Фракция С3 системы комплемента выявлена в слюнных железах. Она синтезируется и секретируется макрофагами. Условия для активации литического действия системы комплемента на слизистых оболочках рта менее благоприятны, чем в кровяном русле.

Агрегированный SIgA может активировать и присоединять комплемент по альтернативному пути через С3. IgG и IgM обеспечивают активацию комплемента по классическому пути через С1–С3–С5–С9 — мембранатакующий комплекс. Фракция С3 участвует в реализации эффекторных функций активированной системы комплемента.

Слюна содержит тетрапептид сиалин, который нейтрализует кислые продукты, образующиеся в результате жизнедеятельности микрофлоры зубных бляшек, вследствие чего обладает сильным противокариозным действием. В слюне здоровых людей всегда обнаружи-

ваются полиморфно-ядерные лейкоциты, моноциты, лимфоциты, которые попадают в нее из дёсневых карманов.

В местном иммунитете полости рта большую роль играют клетки соединительной ткани слизистой оболочки. Основную массу этих клеток составляют ф и б р о б л а с т ы и т к а н е в ы е м а к р о ф а г и, которые легко мигрируют в очаг воспаления. Фагоцитоз на поверхности слизистой оболочки и в подслизистой соединительной ткани осуществляют гранулоциты и макрофаги. Они способствуют очищению очага от патогенных бактерий. Кроме того, между коллагеновыми волокнами вокруг сосудов располагаются тучные клетки — потенциальные участники аллергических реакций анафилактического типа. Решающую роль в обеспечении местного иммунитета слизистой оболочки рта играют антитела класса А, особенно их секреторная форма — SIgA. У здоровых людей в строме всех желез внешней секреции (в том числе слюнных желез) и слизистых оболочек, сообщающихся с внешней средой, подавляющее большинство плазматических клеток продуцирует IgA.

По содержанию иммуноглобулинов различаются внутренние и внешние секреты полости рта. Внутренние секреты представляют собой отделяемое десневых карманов, в которых содержание иммуноглобулинов близко к их концентрации в сыворотке крови. Во внешних секретах, например слюне, количество IgA значительно превышает их концентрацию в сыворотке крови, в то время как содержание IgM, IgG и IgE в слюне и сыворотке примерно одинаково. Секреторный иммуноглобулин SIgA более резистентен к действию протеолитических ферментов по сравнению с сывороточным IgA. Показано, что SIgA присутствует в слюне у детей с момента рождения, к 6–7-му году жизни уровень его в слюне увеличивается почти в 7 раз. Нормальный синтез SIgA является одним из условий достаточной устойчивости детей первых месяцев жизни к инфекциям, поражающим слизистую оболочку рта.

Секреторные иммуноглобулины SIgA могут выполнять несколько защитных функций. Они подавляют адгезию бактерий, нейтрализуют вирусы и препятствуют всасыванию антигенов (аллергенов) через слизистую оболочку. Так, например, SIgA-антитела подавляют адгезию кариесогенного стрептококка S. mutans к эмали зуба, что препятствует развитию кариеса. Достаточный уровень SIgA-антител способен, видимо, предотвратить развитие некоторых вирусных инфекций в полости рта, например герпетической инфекции. У лиц с дефицитом SIgA антигены беспрепятственно адсорбируются на слизистой оболочке рта и поступают в кровь, что может привести к тяжелым последствиям аллергизации. Антитела этого класса препятствуют возникновению патологических процессов на слизистой оболочке, не вызывая ее повреждения, так как взаимодействие SIgA-антител с ан-

тигеном в отличие от антител G и M не вызывает активации системы комплемента. Из неспецифических факторов, способных стимулировать синтез SIgA, следует отметить также витамин A.

25.5. РОЛЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В ОБРАЗОВАНИИ ЗУБНЫХ БЛЯШЕК

Зубные бляшки — это скопления бактерий в матриксе органических веществ, главным образом протеинов и полисахаридов, приносимых туда слюной и продуцируемых самими микроорганизмами (рис. 25.1). Различают над- и поддёсневые бляшки. Первые имеют патогенетическое значение при развитии кариеса зубов, вторые — при развитии патологических процессов в пародонте. Процесс бляшкообразования начинается с взаимодействия гликопротеинов слюны с поверхностью зуба, причем кислые группы гликопротеинов соединяются с ионами кальция зубной эмали, а основные взаимодействуют с фосфатами гидроксиапатитов. Таким образом, на поверхности зуба образуется пленка — пелликула. Участие микроорганизмов в ее образовании не обязательно, но их присутствие активизирует процесс. Первые микробные клетки оседают в углублениях на поверхности зуба. Размножаясь, они заполняют все углубления, а затем переходят на гладкую поверхность зуба. В это время наряду с кокками появляется большое количество палочек, нитевидных форм бактерий и описанных выше «кукурузных початков». Весь процесс адгезии происходит очень быстро: через 5 мин. количество бактериальных клеток на 1 см^2 увеличивается с 10^3 до 10^5–10^6. В дальнейшем скорость адгезии

Рис. 25.1. Участие микроорганизмов в патогенезе кариеса зубов (схема)

замедляется и в течение примерно 8 ч остается стабильной. Через 1–2 дня количество прикрепившихся бактерий вновь увеличивается, достигая концентрации 10^7–10^8.

При формировании зубных бляшек в этот период особая роль принадлежит оральным стрептококкам. Так, в течение первых 8 ч количество клеток S. sanguis в бляшках составляет 15–35% общего количества микроорганизмов, а ко второму дню — 70%. S. salivarius в бляшках обнаруживается лишь в течение первых 15 мин. Затем к ним присоединяются вейллонеллы, коринебактерии и актиномицеты. На 9–11-й день появляются фузиформные бактерии, количество которых быстро возрастает. Таким образом, при образовании бляшек вначале превалирует аэробная и факультативная анаэробная микрофлора, которая резко понижает окислительно-восстановительный потенциал в данной области, создавая тем самым условия для развития строгих анаэробов.

Микрофлора бляшек на зубах верхней и нижней челюстей различается по составу: на бляшках зубов верхней челюсти чаще обитают стрептококки и лактобактерии, на бляшках зубов нижней челюсти — вейллонеллы и нитевидные бактерии. Актиномицеты выделяются из бляшек обеих челюстей в одинаковом количестве. Такое распределение микрофлоры объясняется различными значениями pH среды.

Бляшкообразование на поверхности фиссур и межзубных промежутков, где превалируют грамположительные кокки и палочки при отсутствии анаэробов, происходит иначе. Первичная колонизация идет очень быстро и уже в первый день достигает максимума. В дальнейшем количество бактериальных клеток в течение длительного времени остается постоянным. Таким образом, здесь не происходит замены аэробной микрофлоры анаэробной, которая наблюдается в бляшках гладкой поверхности зубов.

На развитие зубных бляшек во многом влияют количество и состав потребляемой пищи, в частности углеводов. В результате ферментативной деятельности оральных стрептококков и лактобактерий происходит расщепление сахарозы с образованием большого количества молочной кислоты, что резко снижает pH среды. Дальнейший распад образовавшейся молочной кислоты вейллонеллами, нейссериями и другими микроорганизмами приводит к накоплению уксусной, пропионовой, муравьиной и других органических кислот, которые также участвуют в бляшкообразовании. При избыточном потреблении сахарозы и других углеводов происходит образование внутри- и внеклеточных полисахаридов. Первые близки к гликогену и могут использоваться бактериальной клеткой как запасные питательные вещества. При их разложении происходит образование молочной и других органических кислот, которые снижают значение pH среды и

участвуют в бляшкообразовании. Однако при pH ниже 5,5 синтез внутриклеточных полисахаридов подавляется. Многие микроорганизмы полости рта, особенно S. mutans, способны образовывать внеклеточные полисахариды — растворимый и нерастворимый глюкан (декстран) и леван (фруктан). Растворимый глюкан и леван легко расщепляются как S. mutans, так и другими микроорганизмами. Нерастворимый глюкан активно участвует в процессе адгезии оральных микроорганизмов.

Наряду с кислыми продуктами в результате метаболизма образуются щелочные продукты, например мочевина, аммиак и др., присутствие которых приводит к повышению значения pH в бляшках, что препятствует дальнейшему их развитию.

25.5.1. Кариес зубов

Кариес — это патологический процесс, при котором происходит деминерализация и размягчение твердых тканей зуба с последующим образованием полости. В норме зубная эмаль находится в состоянии динамического равновесия между постоянно протекающими процессами де- и реминерализации. Деминерализация обусловлена свободными ионами водорода H^+, главным источником которых являются органические кислоты — продукты метаболизма оральных микроорганизмов. Скорость разрушения эмали значительно повышается при снижении pH среды ниже 5. Большое значение для развития кариозного процесса имеет длительность контакта кислых продуктов с зубной эмалью. Кариес развивается на тех поверхностях зуба, которые находятся в длительном контакте с образовавшимися кислотами. Это приводит к постепенному увеличению микропространств между кристаллами эмалевых призм. В образовавшиеся мельчайшие дефекты проникают микроорганизмы и повреждают эмаль на участках, расположенных параллельно наружной и внутренней поверхности. Длительный процесс деминерализации завершается растворением устойчивого поверхностного слоя и образованием полости в зубе (рис. 25.2).

Рис. 25.2. Патогенез кариеса (схема)

К кариесогенным относятся в первую очередь микроорганизмы, способные вызывать кариес в чистой культуре или в ассоциации с другими клетками у гнотобионтных животных.

Наибольшее значение в развитии кариеса имеют оральные стрептококки S. mutans, S. sanguis, лактобактерии, актиномицеты (A. viscosus).

Эти микроорганизмы являются представителями аутохтонной микрофлоры полости рта здоровых людей, но при определенных условиях могут играть этиопатогенетическую роль в кариесогенезе, поскольку они ферментируют многие углеводы. При этом pH в бляшках снижается до критического уровня (pH 5 и ниже). При расщеплении внутриклеточных бактериальных полисахаридов также образуются органические кислоты (молочная и др.), дополнительно снижающие pH в кариозной полости (см. рис. 25.1).

Наряду с кислотообразованием наиболее важное патогенетическое значение в заболевании кариесом имеют оральные стрептококки, и прежде всего S. mutans, которые обладают конститутивным ферментом глюкозилтрансферазой, превращающим сахарозу в декстран, способствующий прикреплению стрептококка на поверхности зубов[1]. Кроме того, внеклеточные полисахариды, заполняя весь объем бляшки или очага поражения, затрудняют процесс реминерализации, препятствуя поступлению в эмаль ионов кальция и фосфатов. На кариесогенную активность оральных микроорганизмов влияет слюна — ее агрегирующие факторы, которые, с одной стороны, способствуют прикреплению микробных клеток к поверхности зуба, а с другой — удаляют их при омывании полости рта.

На равновесие между процессами де- и реминерализации влияют многие факторы — наличие в слюне бикарбоната, мочевины, ионов кальция, фосфора и другие. При снижении pH ниже критического уровня (pH 5) ионы кальция и фосфора выходят из зубной эмали в окружающую среду, при повышении значения pH они входят в состав эмали обратно. Способностью повышать значение pH и, следовательно, противокариотическим действием обладает система буферов бикарбонат — карбоновая кислота, а также протеин и сиалин, находящиеся в слюне.

Профилактика кариеса может быть направлена на уменьшение количества кариесогенных микроорганизмов в полости рта. Механическое удаление зубных бляшек нецелесообразно, поскольку на очищенную поверхность сразу же оседают новые бактериальные клетки, что приводит к быстрому восстановлению микрофлоры. Более эффективно применение различных бактерицидных и бактериостатических препаратов. Хорошие результаты получают с помощью антисептиков, в частности 0,2% хлоргексидина. При этом количество клеток S. mutans в зубных бляшках снижается на 80–85%,

[1] Оральные стрептококки (S. mutans и др.), обладающие конститутивным ферментом глюкозилтрансферазой, превращают сахарозу в декстран, способствующий прикреплению стрептококков к поверхности зубов.

а в слюне — на 55%. Покрывая зубную поверхность, хлоргексидин не только оказывает на микроорганизмы бактерицидное действие, но и препятствует их адгезии, не нарушая при этом микробного равновесия. Угнетающим действием на микроорганизмы обладает фтор и его соединения, особенно соли ZnF_2 и CuF_2, а также пятиатомный спирт — ксилит, который нарушает процесс гликолиза у бактерий. Для профилактики кариеса используют химические ингибиторы, подавляющие определенные метаболические реакции у S. mutans. Например, фтор угнетает действие ферментов, участвующих в процессе гликолиза, к которым относятся: фосфатазы, энолазы и фосфоглицеромутазы. Это приводит к торможению кислотообразования. Подобным действием обладает N-лаурилсаркозинат и гидроацетат натрия. Возможно, что широкое включение монолаурина в продукты питания окажется эффективным средством профилактики кариеса. Для ингибирования продуцирования глюканов используют конденсированные фосфаты.

Другой путь снижения кислотообразования и накопления глюканов — замена сахарозы другими углеводами (например, ксилозилфруктозилом и изомальтозилфруктозилом), при ферментативном расщеплении которых эти продукты не образуются.

Основной защитный механизм местного иммунитета полости рта при кариесе состоит в способности SIgA препятствовать адгезии S. mutans. Обоснованное представление о защитной роли специфических антител, относящихся к SIgA, легло в основу разработки методов специфической профилактики кариеса. Уже созданы первые варианты противокариесных вакцин, которые испытаны в экспериментальных моделях на животных. В ответ на иммунизацию такими вакцинами образуются специфические антитела класса SIgA, которые накапливаются в слюне и оказывают протективное действие на зубы, предотвращая развитие кариеса. Опасность такого рода вакцинации связана с наличием у S. mutans перекрестно-реагирующих антигенов с миокардом человека. Рассматриваются также возможности создания вакцин против Actinomyces viscosus, принимающего активное участие в патогенезе кариеса.

25.5.2. Заболевания пародонта

Известны разнообразные формы поражения пародонта. Этиологическая роль микроорганизмов установлена при различных формах гингивита и маргинального пародонтита. Все воспалительные процессы в пародонте начинаются с образования зубных бляшек, преимущественно субгингивальных, в результате колонизации поверхности зубов факультативными анаэробами, прежде всего A. viscosus и S. mutans. В дальнейшем к поверхности клеток этих бактерий мо-

гут прикрепляться другие, например B. melaninogenicus, F. nucleatum, а также вейллонеллы, не способные к самостоятельной адгезии на поверхности зубов. При первичной колонизации зуба факультативные анаэробы снижают окислительно-восстановительный потенциал, создавая тем самым условия для размножения строгих анаэробов, имеющих большое патогенетическое значение в развитии заболеваний пародонта. Благоприятные условия для размножения анаэробных микроорганизмов создаются в глубине зубных бляшек. Здесь находятся преимущественно спирохеты и бактероиды. В поверхностных слоях бляшек микрофлора представлена главным образом S. mutans и некоторыми актиномицетами. У больных с прогрессирующим пародонтитом встречаются преимущественно грамотрицательные облигатные анаэробы. Из субгингивальных бляшек выделено до 400 видов различных микроорганизмов, относящихся к родам Fusobacterium, Bacteroides, Actinomycetes, Peptococcus, Treponema и др.

Замечено, что у беременных женщин резко увеличивается количество B. melaninogenicus, которые способны синтезировать из прогестерона и эстрадиола витамин К, необходимый для их роста. При заболеваниях пародонта в глубоких десневых карманах формируются благоприятные условия для развития строгих анаэробов. Многие анаэробные бактерии и в первую очередь B. gingivalis способны выделять токсические продукты и ферменты, обладающие цитотоксическим действием. Патогенетическое значение имеют такие микробные ферменты, как коллагеназа, протеаза, гиалуронидаза, нейраминидаза и др., способные разрушать ткани макроорганизма. В дальнейшем развитии процесса могут участвовать ферменты, секретируемые фагоцитирующими клетками — лизосомные гидролазы и нейтральные протеиназы фагоцитов, РНК-азы и ДНК-азы. Макрофаги, в большом количестве скапливающиеся в очаге воспаления, являются продуцентами простагландина E_2 и тромбоксана B_2, которые обнаруживаются в тканях десен при заболеваниях пародонта. Более тяжелое течение воспалительного процесса при пародонтитах объясняется тем, что многие микроорганизмы, присутствующие при этом в большом количестве (B. melaninogenicus и др.), разрушают IgA и IgG своими ферментами. Снижая барьерную функцию слизистой оболочки, эти микроорганизмы облегчают проникновение и распространение в тканях пародонта токсичных продуктов, литических ферментов и субгингивальной микрофлоры.

Пародонтит не связан с каким-либо специфическим возбудителем. Однако частота и постоянство выделения при этой форме заболевания таких микроорганизмов, как B. gingivalis, A. viscosus, B. melaninogenicus и др., позволяют судить об их патогенетическом значении. Особенно часто при пародонтите встречается B. gingivalis. Его вирулентность связана с фимбриями, с помощью которых

осуществляется адгезия, а также с наличием в клетках данных бактерий высоко- и низкомолекулярных липополисахаридов, которые участвуют в резорбции костной ткани, стимулируют выделение из кости кальция и снижают на 30–40% продукцию коллагена. В присутствии гемина вирулентность B. gingivalis резко повышается. Повышенная кровоточивость десен при пародонтозе, способствующая накоплению в очаге гемина, является фактором, повышающим вирулентность B. gingivalis. Кроме того, при заболеваниях пародонта увеличивается также количество A. viscosus, которые стимулируют приток лейкоцитов в очаге воспаления и выделяют вещество, вызывающее резорбцию кости.

В патогенезе болезней пародонта существенная роль принадлежит не только микробным факторам, но и иммунопатологическим механизмам — иммунокомплексному и клеточному. На более поздних стадиях присоединяется аутоиммунный компонент патогенеза болезней пародонта. При этом возникает специфическая ответная иммунная реакция, проявляющаяся в гингивите — иммунном воспалении. При увеличении количества грамотрицательных бактерий и их разрушении выделяется эндотоксин, действие которого повышает образование IgM и уменьшает IgG. Антитела, относящиеся к IgG, вступая в реакции антиген — антитело, активируют систему комплемента, а при избытке антигена в тканях дёсен наступает аллергическая реакция III типа, ведущая к некрозу. Этому может способствовать токсическое действие эндотоксина. Некроз, охватывающий края десен, характерен для язвенного гингивита.

Иммунопатогенез пародонтопатий можно разделить на две фазы: обратимую и необратимую. Обратимая фаза связана с нормальным иммунным ответом защитного характера со стороны местных тканей. Ее механизм обусловливается усиленным размножением грамотрицательных бактерий в дёсневых карманах и зубных бляшках. Микробные ферменты разрыхляют непроницаемый для бактерий барьер — краевой эпителий десны и создают условия для трансфузии эндотоксинов (ЛПС) в соединительную ткань. Микробные антигены, продукты распада клеток и обменные продукты зубной бляшки (хемоаттрактанты) провоцируют усиленную миграцию сегментоядерных лейкоцитов и макрофагов в краевой эпителий. По мере накопления специфических антител (IgG и IgM) они образуют иммунные комплексы с персистирующими антигенами микробной природы, что должно способствовать очищению от них слизистой оболочки рта. Захват и деградацию иммунных комплексов и продуктов их распада осуществляют мигрирующие в очаг воспаления фагоциты, активированные лимфокинами.

Обратимая фаза клинически проявляется признаками местного воспаления — гингивита. Своевременное лечение прекращает мас-

сивное поступление антигенов и останавливает или ликвидирует воспаление десны. Однако если массивное поступление микробных антигенов не прекращается, мобилизованные защитные механизмы могут привести к деструкции тканей. Это происходит в связи с освобождением фагоцитирующими клетками лизосомных ферментов, среди которых наиболее активны нейтральные протеиназы: коллагеназа и эластаза. Они способны расщеплять денатурированный коллаген пародонтальной соединительной и костной тканей. При этом эпителий набухает и теряет прочную связь с твердыми тканями зуба. В результате образуется патологический дёсневый карман — входные ворота для вторичной гноеродной инфекции. В этом случае гингивит превращается в пародонтит.

Необратимая, иммунопатологическая фаза прежде всего связана с сенсибилизацией Т-лимфоцитов аутоантигенами, образующимися при деструкции пародонта. Важную роль играют при этом микробные эндотоксины, которые усиливают сенсибилизацию лимфоцитов, а также могут вызывать поликлональную активацию В-лимфоцитов. Не исключена роль перекрестно реагирующих микробных и тканевых антигенов в индукции утраты естественной иммунологической толерантности к собственным антигенам. Возможно и нарушение баланса регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов, в результате чего утрачивается Т-супрессорный контроль ответа на аутоантигены. Так или иначе формируются механизмы аутоагрессии, приводящие к прогрессирующему, рецидивирующему, необратимому течению пародонтита с атрофией остеоцитов и альвеолярных отростков челюсти.

25.6. ИНФЕКЦИОННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ РТА

Инфекции, поражающие слизистую оболочку рта и красную кайму губ, можно разделить на две группы: *первичные* и *вторичные*. К первичным относят такие заболевания, при которых входными воротами инфекции является слизистая оболочка рта и красная кайма губ, где развивается инфекционный процесс. При вторичных инфекциях слизистая оболочка является местом проявления общих, системных заболеваний человека — кишечных, респираторных и др. Проявления первичных и вторичных заболеваний полости рта зависят от реализации патогенного потенциала возбудителя и от состояния иммунной системы человека, а также от местных неспецифических механизмов защиты, к которым относятся лизоцим, лактоферрин и др. Все инфекционные заболевания слизистой оболочки рта можно разделить на бактериальные, вирусные и грибковые.

25.6.1. Острые бактериальные инфекции

Гнойные заболевания слизистой оболочки рта и губ. Возбудителями гнойных заболеваний являются представители нормальной микрофлоры полости рта, хотя экзогенное заражение также имеет место. Среди возбудителей гнойных заболеваний наиболее часто встречаются стафилококки и стрептококки, реже гонококки, фузобактерии в симбиозе со спирохетами, неспорообразующие анаэробные бактерии (*см. главу 20*). Слизистая оболочка рта достаточно устойчива к воздействию упомянутых микроорганизмов. Однако при наличии микротравм создаются условия для проникновения присутствующих в полости рта микробов в пародонт. При достаточной вирулентности возбудителя и сниженной резистентности макроорганизма создаются условия для развития гнойного воспалительного процесса, который может протекать в различных клинических формах: фурункулы, гингивостоматит, заеда, хронические трещины губ, хроническая язвенная пиогенная гранулема. При всех этих формах появляются эрозии с гнойным отделяемым.

Входными воротами инфекции для стрептококков, также как и для стафилококков, могут служить микротравмы. Они являются частой причиной пиодермий, которые локализуются на коже губ, а иногда на слизистой оболочке рта, красной кайме губ, в углах рта. Смешанная стафилострептококковая инфекция является причиной развития импетиго, при котором вначале обнаруживаются стрептококки, а затем стафилококки. При этом гнойничковый процесс развивается на коже лица, красной кайме губ и далее может распространяться на слизистую оболочку рта. Заболевание чаще встречается у детей и пожилых людей, пользующихся съемными протезами.

Гонококки являются возбудителями венерических заболеваний. Гонококковый стоматит возникает при орально-генитальных контактах. Он проявляется гиперемией, отеком на слизистой оболочке рта, небольшими эрозиями с вязким слизисто-гнойным секретом. У новорожденных, родившихся от матерей, больных гонореей, наряду с бленнореей может возникнуть гонорейный стоматит, для профилактики которого рот новорожденных сразу же после рождения обрабатывают антисептиком.

Гингивостоматит Венсана (фузоспирохетоз) является смешанной инфекцией, вызываемой двумя возбудителями — фузобактериями и боррелиями. Заболевание чаще возникает у молодых людей. Существует мнение, что фузоспирохетоз возникает на фоне первоначального воспалительного процесса, вызванного стафилострептококками. Затем происходит активное размножение фузиформных бактерий и спирохет, которые постоянно присутствуют в небольших количествах в полости рта. Патогенетическое значение фузиформных бактерий связано с на-

личием у них фермента коллагеназы, который участвует в разрушении коллагеновых волокон соединительной ткани. При этом азотсодержащие низкомолекулярные продукты, образовавшиеся в результате распада коллагена, могут усваиваться спирохетами.

Анаэробные условия, создающиеся в некротизированных тканях, препятствуют быстрому выздоровлению и способствуют дальнейшему повреждению тканей. Фузиформные бактерии развиваются вместе с другими анаэробами: бактероидами, пептококками, пептострептококками, вейллонеллами.

При лечении фузоспирохетоза применяют антибиотики, которые быстро угнетают рост специфической микрофлоры. Однако следует помнить, что фузоспирохеты не являются первичными возбудителями. Лечение будет эффективным, если оно направлено против микроорганизмов, вызвавших первичное повреждение тканей: стафилококков, стрептококков или герпесвирусов.

25.6.2. Хронические бактериальные инфекции

Сифилис. Возбудителем сифилиса является бледная трепонема (Treponema pallidum). Формирование первичной сифиломы — твердого шанкра — наблюдается по истечении 3–4-недельного инкубационного периода на месте входных ворот инфекции. При половой передаче он появляется на наружных половых органах, при орально-генитальном или бытовом заражении — на красной кайме губ, слизистой оболочке рта, языке, миндалинах. При локализации твердого шанкра на губах или слизистой оболочке рта примерно через неделю происходит увеличение поднижнечелюстных и подподбородочных лимфатических узлов. Отделяемое шанкра содержит большое количество трепонем, которые могут быть обнаружены при микроскопии нативных препаратов при темнопольной микроскопии. В дальнейшем на слизистой оболочке рта и красной кайме губ локализуются сифилитические поражения на всех стадиях заболевания.

При врожденном сифилисе первые симптомы заболевания появляются уже на 1–2-м мес. жизни. Губы становятся отечными, утолщенными, желто-красного цвета. На поверхности пораженной слизистой оболочке рта появляются язвы, которые в дальнейшем рубцуются. Особенно характерны рубцы в углах рта (рубцы Робинсона — Фурнье). При проявлении врожденного сифилиса в более поздние сроки, на слизистой оболочке рта появляются изменения, напоминающие гуммозные. Серологические реакции обычно положительные.

Туберкулез. Возбудителем туберкулеза человека являются Mycobacterium tuberculosis и M. bovis. Туберкулез, поражающий слизистую оболочку рта и красную кайму губ, может проявляться в форме туберкулезной волчанки. В этом случае процесс чаще всего лока-

лизуется на десне и в области передних зубов, на верхней губе и на небе. Заболевание начинается с появления специфического туберкулезного бугорка красного или желтого цвета, диаметром 1–3 мм. Бугорок в центре разрушается с образованием язвы. При дальнейшем развитии заболевания разрушается костная ткань межальвеолярных перегородок, что приводит к подвижности и выпадению зубов. При длительном течении болезни на месте поражения образуются гладкие, блестящие рубцы. Осложнение заболевания бактериальной или кандидозной вторичной инфекцией отягчает процесс.

Лепра (проказа). Возбудителем лепры — хронической генерализованной инфекционной болезни, характеризующейся поражением кожи, слизистых оболочек, внутренних органов, является Mycobacterium leprae. Слизистая оболочка рта поражается только при лепроматозном типе заболевания. При этом на ней, также как и на коже, и по ходу нервных стволов образуются лепроматозные инфильтраты, в клетках которых размножаются фагоцитированные бактерии. Далее возникают лепроматозные бугорки на твердом и мягком небе, которые изъязвляются с последующим рубцеванием. Лепроматозные поражения могут появляться на губах и языке.

Актиномикоз. Патологическое значение для человека наиболее часто представляют A. israelii и A. viscocus. В зависимости от локализации воспалительного процесса различают отдельные клинические формы актиномикоза, среди которых сравнительно часто встречается актиномикоз лица и нижней челюсти. У многих больных к основному процессу присоединяется вторичная инфекция, вызванная стрептококками, стафилококками, бактероидами. Решающее значение для развития актиномикоза имеют дефекты местного иммунитета полости рта; сенсибилизация, развивающаяся в результате повторных инфицирований; различные предрасполагающие факторы, в частности гнойные воспалительные процессы. В результате специфической сенсибилизации организма в местах размножения актиномицетов формируются гранулемы, которые морфологически выявляются как актиномикотические друзы и являются результатом развития местных реакций гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ).

25.7. ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ

Поражения слизистой оболочки рта наблюдаются при многих вирусных инфекциях (*см. 10.3*). Сопутствующие дисбактериоз, грибковый или медикаментозный стоматит осложняют течение вирусной инфекции.

При поражении слизистой оболочки рта и красной каймы губ чаще других встречаются герпесвирусы.

Вирусы простого герпеса по антигенной структуре подразделяют на два типа — ВГ-1 и ВГ-2. Они имеют перекрестно-реагирующие и типоспецифические антигены. ВГ-1 обнаруживается при герпетической лихорадке — наиболее распространенной герпетической инфекции человека. Этот вирус встречается также при гингивостоматите, герпетической экземе, кератоконъюнктивите, менингоэнцефалите и других заболеваниях. Острым герпетическим гингивостоматитом болеют чаще всего дети (от 6 мес. до 3 лет). У детей до 6 мес. обычно сохраняются антитела, полученные от матери и предохраняющие их от заражения. При отсутствии антител заболевание протекает тяжело и может наблюдаться генерализация процесса.

Патогенез развития рецидивирующего герпетического стоматита изучен недостаточно, однако его связывают с иммунодефицитным состоянием, поскольку обострение герпетического стоматита протекает на фоне снижения количества Т- и В-лимфоцитов, уменьшения количества иммуноглобулинов IgG и резкого снижения уровня лейкоцитарного интерферона. Рецидивы связаны с поддержанием латентной инфекции в нервных ганглиях, где персистирует вирус.

Ветряная оспа и опоясывающий лишай. Возбудитель относится к герпесвирусам. Высыпания локализуются в полости рта, на лице, туловище и конечностях. При кашле, чихании и разговоре вирус выделяется в окружающую среду. У больных ветряной оспой появляются вируснейтрализующие антитела, которые в острую стадию заболевания не обладают протективными свойствами. Клеточные факторы иммунитета также не предупреждают развитие латентной инфекции, вследствие чего вирус может персистировать в течение многих лет в нервных ганглиях задних корешков спинного мозга. Для специфической терапии применяют иммуноглобулин, лучше полученный от людей, переболевших опоясывающим лишаем, так как он предотвращает также заболевание ветряной оспой. Используют интерферон.

Среди п и к о р н а в и р у с о в для стоматологов представляет интерес вирус Коксакки А, являющийся возбудителем герпетической ангины, которая проявляется везикулярными высыпаниями на фоне общей гиперемии слизистой оболочки рта. Пузырьки быстро лопаются, и на их месте образуются афты с серовато-белым дном. Процесс обычно протекает благоприятно и заканчивается выздоровлением к концу 1-й недели заболевания.

В и р у с ы п а п и л л о м ы в отличие от других паповавирусов вызывают образование бородавок (опухли). Инфекционные бородавки — это доброкачественные образования, проявляющиеся в форме плоских бородавок, остроконечных кондилом, папиллом слизистой оболочки рта. Чаще эти вирусы поражают детей и юношей. Заражение происходит в результате прямого контакта с больными или через предметы общего пользования.

Другие вирусы. Слизистая оболочка рта может кратковременно поражаться другими вирусными заболеваниями, однако такой процесс носит кратковременный характер и не причиняет особых неприятностей больному. Его следует рассматривать как местное поражение, локализующееся в области слизистой оболочки рта, вследствие общих нарушений со стороны разных систем организма человека. В полости рта могут локализоваться многие вирусы: из семейства пикорнавирусов — вирусы ящура и риновирусы, из семейства ортомиксовирусов — вирус гриппа, из семейства парамиксовирусов — вирусы парагриппа, респираторно-синцитиальный вирус, вирус паротита и кори, из семейства аденовирусов — аденовирусы и т.д. Они являются возбудителями главным образом респираторных заболеваний, могут локализоваться как в самой полости рта, так и в лимфоидной ткани, сообщающейся с ней.

Одним из ранних клинических симптомов СПИДа («преСПИД») является кандидоз слизистой оболочки рта. В этой связи нередки случаи обращения больных СПИДом к стоматологу по поводу кандидозного стоматита и других поражений: атипичного микобактериоза, вызванного Mycobacterium avium, герпетических первичных и рецидивирующих пузырьковых высыпаний на эритематозном основании, которые приводят к образованию язвы в полости рта. Нередко наблюдаются смешанные инфекции с участием бактерий, дрожжеподобных грибов и вирусов, которые проявляются в виде некротизирующего гингивита.

Вторая группа клинических проявлений СПИДа — злокачественные опухоли — также могут обнаруживаться в полости рта. Свыше 30% больных СПИДом страдают саркомой Капоши — сосудистой опухолью лимфоэндотелиального происхождения, которая, возможно, связана с цитомегаловирусом. При этом заболевании поражаются слизистая оболочка рта и регионарные лимфатические узлы. У больных СПИДом нередко возникают папилломы и кондиломы вирусного происхождения, а также чешуйчатые карциномы в полости рта и пищеводе.

25.8. ГРИБКОВЫЕ ИНФЕКЦИИ

Возбудителями большинства микозов, поражающих слизистую оболочку рта, являются дрожжеподобные грибы рода Candida (*см. 22.10.2*). Первичное инфицирование полости рта человека происходит во время родов, поскольку очень часто родовые пути матери заражены дрожжеподобными грибами рода Candida. После рождения ребенка эти грибы могут попасть в полость

рта с различных предметов обихода при нарушении гигиенических норм. Количество клеток дрожжей у ребенка нарастает и достигает максимума к 4-й неделе, а затем снижается. К старости количество дрожжей вновь нарастает, особенно у лиц, пользующихся зубными протезами.

Процесс взаимоотношения дрожжевых клеток с эпителиальными клетками слизистой оболочки рта начинается с их адгезии. Сахароза, мальтоза, глюкоза и другие углеводы повышают активность адгезии. Способность к адгезии является видовым признаком, но интенсивность ее варьирует. Адгезивность дрожжеподобных грибов рода Candida во многом определяет их вирулентность. Так, имеющие наибольшее патогенетическое значение C. albicans адгезируют на клетках человеческого эпителия в 1,5 раза быстрее, чем другие виды. Применение антибактериальных антибиотиков усиливает адгезию дрожжевых клеток. Система комплемента, которая активируется маннаном клеточной стенки дрожжей, ингибирует их адгезию. В патогенезе заболеваний, вызванных представителями рода Candida, определенную роль играют такие ферменты, как нейраминидаза, кислая протеаза и др. Дрожжеподобные грибы способствуют разрушению зубной эмали и развитию кариеса. Кариозные зубы, в которых вегетируют дрожжевые клетки, можно рассматривать как своеобразную экологическую нишу, благодаря которой они могут участвовать в развитии микотических тонзиллитов и стоматитов.

Обычно дрожжеподобные грибы рода Candida в полости рта человека ассоциируются с другими микроорганизмами. Их синергические взаимоотношения объясняются продукцией некоторых ростовых веществ — витаминов, которые способствуют росту многих микроорганизмов, в частности лактобактерий. С другой стороны, выделяемая лактобактериями молочная кислота угнетает размножение дрожжеподобных грибов. Как правило, дрожжеподобные грибы колонизируют слизистую оболочку рта, не вызывая патологических изменений. Однако на фоне иммунодефицитных состояний или длительной антибиотикотерапии, особенно антибиотиками широкого спектра действия (тетрациклин, левомицетин и др.), приводящей к дисбактериозу, они вызывают кандидозы. Последние протекают либо в виде местных поражений полости рта, либо в виде генерализованного кандидоза со множественными поражениями внутренних органов человека.

Местные проявления кандидоза, или первичный кандидоз в полости рта, протекают в форме острого псевдомембранозного кандидоза (молочницы), острого или хронического кандидоза и гиперпластического кандидоза.

Острый псевдомембранозный кандидоз (молочница) характеризуется образованием беловато-серого легко снимающегося творожис-

того налета. Заболевание часто поражает новорожденных, особенно недоношенных и с родовыми травмами. У взрослых псевдомембранозный кандидоз встречается редко и поражает главным образом лиц с тяжелыми вторичными иммунодефицитными состояниями — при раке, после применения стероидной терапии, радио- и рентгенотерапии, цитостатиков.

Острый атрофический кандидоз может развиваться как следствие псевдомембранозного кандидоза.

Хронический атрофический кандидоз развивается часто в результате ношения протезов. Заболевание часто поражает изолированные участки губ (кандидозный хейлит), углов рта (заеды), языка (глоссит).

Гиперпластический кандидоз характеризуется появлением на гиперемированной слизистой оболочке крупных, иногда сливающихся белых папул. Поражаются главным образом слизистая оболочка щек, рядом с углами губ, спинка языка и задняя часть нёба. Заболевание часто приобретает хроническое течение и иногда рассматривается как предраковое состояние.

25.9. ОДОНТОГЕННЫЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

К воспалительным заболеваниям челюстно-лицевой области относятся: периодонтит, периостит челюсти, остеомиелит челюсти и воспалительные процессы в околочелюстных мягких тканях (абсцессы и флегмоны). Все эти острые гнойные воспалительные процессы взаимосвязаны, так как происходит постепенное перемещение инфекции из канала зуба на периодонт, из периодонта на надкостницу, костную ткань челюсти, в околочелюстные мягкие ткани. Как правило, возбудителями одонтогенных воспалительных процессов являются представители нормальной микрофлоры полости рта: стафилококки, стрептококки, грамположительные и грамотрицательные бактерии. Чаще всего они встречаются в виде микробных ассоциаций, вызывающих смешанные инфекции. Ведущую роль в этих ассоциациях играют неспорообразующие грамотрицательные анаэробы и патогенные стафилококки, которые характеризуются множественной резистентностью к антибиотикам. Развитие одонтогенных воспалительных процессов определяется особенностями анатомо-топографических соотношений между входными воротами — одонтогенным очагом и окружающими тканями — надкостницей, костью и мягкими тканями челюстно-лицевой области. Обилие кровеносных и лимфатических сосудов создает благоприятные возможности для быстрого распространения инфекции.

25.10. ИММУНОПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ПОЛОСТИ РТА

К иммунопатологическим процессам, протекающим в полости рта, относятся реакции гиперчувствительности (аллергия, гиперфункция иммунной системы), аутоиммунные заболевания и иммунодефицитные состояния. Иммунопатологические состояния могут быть врожденными, генетически детерминированными и приобретенными в течение жизни индивидуума. По своему происхождению иммунопатологические состояния подразделяются на эндогенные, вызванные аутоантигенами, лимфопролиферацией, нарушениями нейрогормональной регуляции, и экзогенные, которые формируются под влиянием инфекционных агентов, лекарственных препаратов и других факторов.

25.10.1. Реакции гиперчувствтельности

В полости рта встречаются все варианты иммунопатологических процессов. К ним относятся ***реакции гиперчувствительности генерализованного I (анафилактического) типа и генерализованного II (цитотоксического) типа,*** которые обнаруживаются в случаях медикаментозной гиперчувствительности. Например, при местном обезболивании новокаином.

Наиболее опасной формой аллергической реакции I типа является отек Квинке, распространяющийся на гортань и грозящий удушьем. Механизм заболевания связан с реакцией антиген — антитело, которая происходит на мембране тучных клеток с участием гомоцитотропных антител класса IgE и сопровождается массовым выбросом гистамина и гистаминоподобных веществ в кровь.

Реакции гиперчувствительности III типа (иммунокомплексного) на слизистой оболочке рта связаны с образованием иммунных комплексов. Они могут быть вызваны либо бактериальными, либо медикаментозными антигенами. Данные реакции могут наблюдаться при пародонтозе, язвенно-некротическом гингивите, постгерпетической многоморфной эритеме. Они приводят к некрозу, возникающему в результате повреждения сосудистой стенки иммунными комплексами, которые образуются внутри сосудов и оседают на базальной мембране. Так, например, при язвенно-некротическом гингивите плазматические клетки соединительной ткани десен вырабатывают антитела классов IgG и IgM, которые образуют иммунные комплексы с поступающими микробными антигенами. Это приводит к активации системы комплемента по классическому пути и вызывает иммунные повреждения типа феномена Артюса, которые проявляются в поверхностном васкулите, тромбозе и некрозе.

Реакции гиперчувствительности IV типа (клеточного) в полости рта возникают под воздействием инфекционных агентов. Классическим примером подобных воздействий является развитие инфекционной аллергии при туберкулезе. ГЗТ развивается также и при многих других инфекциях, а также при контактном дерматите и лекарственных стоматитах. Часто наблюдаемые лекарственные стоматиты связаны с широким применением в стоматологии акриловых смол, мышьяка, риванола, рентгеноконтрастных веществ и антибиотиков. С помощью кожно-аллергических проб показано, что чужеродные вещества, из которых изготавливают протезы, вызывают аллергизацию в 0,5–5% случаях. В ранних стадиях язвенного гингивита преобладает иммунное воспаление клеточного характера при участии сенсибилизированных Т-лимфоцитов и привлеченных лимфокинами макрофагов (табл. 25.2).

Таблица 25.2

Болезни гиперчувствительности

Тип аллергии	Механизм иммунопатологических реакций	Проявления в полости рта
Тип I — анафилактический шок	Выработка IgE цитотропных. Реакция антиген — антитело с высвобождением медиаторов типа гистамина (Hi)	Анафилактический шок (медикаментозный), отек Квинке, атопический дерматит, крапивница
Тип II — цитотоксический	Выработка IgG против антигенов, входящих в состав клеточных мембран, реакция антиген — антитело через активацию комплемента (С)	Цитотоксические реакции при лекарственной аллергии, рецидивирующий афтозный стоматит
Тип III — иммунокомплексный	Выработка IgM и IgG преципитирующих антител, избыток антигена, патогенные реакции, инициированные иммунными комплексами (ИК) через активацию комплемента и лейкоцитов	Рецидивирующий афтозный стоматит. Инфекционные заболевания, реакция Артюса, пародонтопатии (язвенно-некротический гингивит, пародонтоз), постгерпетическая многоморфная эритема
Тип IV — клеточный	Накопление сенсибилизированных Т-лимфоцитов (ТЛ), реакция между антигеном и сенсибилизированным ТЛ-эффекторами РГЗТ, выработкой лимфокинов и цитотоксические реакции при участии привлеченных ими макрофагов	Аллергические проявления при инфекционных заболеваниях (туберкулеза, актиномикозе, кандидозе и др.) и аутоиммунных заболеваниях, контактная аллергия (лекарственные стоматиты), пародонтопатии, язвенно-некторический стоматит, рецидивирующий афтозный стоматит

При стоматитах встречаются разные типы иммунопатологии. Они могут развиваться на фоне сенсибилизации организма микробными и медикаментозными аллергенами, а также аутоаллергенами. При наличии реакции воспаления гиперергического типа и повышенной проницаемости капилляров наблюдается преобладание альтеративной формы воспаления над экссудативной и некротическими изменениями участков слизистой оболочки рта на фоне сенсибилизации организма. В зависимости от этого различают серозный и язвенно-некротический стоматит.

К иммунопатологическим состояниям со смешанным типом аллергии относится рецидивирующий афтозный стоматит, при котором наблюдаются реакции гиперчувствительности II, III и IV типов при наличии аутоиммунного процесса. В этиологии и патогенезе афтозного стоматита существенное значение имеют проявления ГЗТ к ряду бактериальных антигенов, и в первую очередь к тем из них, которые встречаются в полости рта. В частности, при постановке кожно-аллергических проб реакция ГЗТ может развиваться к стрептококку, стафилококку, кишечной палочке и другим антигенам или одновременно к нескольким бактериальным антигенам. При этом в крови лиц, страдающих данным заболеванием, появляются соответствующие антитела. Из афт при рецидивирующем афтозном стоматите, кроме бактерий, могут быть выделены вирусы простого герпеса и аденовирусы I типа, которые также вызывают состояние гиперчувствительности. Сама афта представляет собой клеточный инфильтрат, состоящий из лимфоцитов, что соответствует иммуноморфологии аллергической реакции ГЗТ, индуцированной к антигенам микроорганизмов полости рта.

При развитии рецидивирующего афтозного стоматита особую роль играют аутоантигены, накапливающиеся при определенных условиях в тканях слизистой оболочки рта. К антигенам патологически измененной слизистой оболочки щек относится дополнительный, так называемый Эн-антиген. Наличие у больных этого антигена подтверждает аутоиммунную концепцию происхождения рецидивирующего афтозного стоматита. Заболевание отличается хроническим течением и характеризуется периодическими ремиссиями и обострениями. На слизистых оболочках рта появляются афты, которые изъязвляются. Обычно это заболевание продолжается в течение всей жизни больного, с наиболее типичными проявлениями в возрасте 20–40 лет.

В возникновении афтозного рецидивирующего стоматита определенную роль играют наследственные и конституционные факторы: наблюдается врожденная генетическая предрасположенность к данному заболеванию, в результате чего довольно часто наблюдаются семейные проявления болезни.

25.10.2. Роль иммунодефицитных состояний в заболеваниях полости рта

Защита слизистой оболочки рта осуществляется в большой степени иммуноглобулинами класса А, поэтому дефицит образования этого класса иммуноглобулинов представляет наибольший интерес для стоматологов. При дефектах Т-лимфоцитов больные подвергаются опасности поражения в первую очередь вирусными и грибковыми инфекциями. Первыми признаками иммунодефицита часто является кандидозный стоматит (молочница) или тяжелое длительное течение герпетического стоматита. Врожденный дефект клеточного иммунитета с нарушением механизмов иммунорегуляции в результате преобладания Т-супрессоров может сочетаться с хроническим кожно-слизистым кандидозом (хронический гранулематозный кандидоз).

Иммунодефицитные состояния могут быть либо причиной, либо следствием болезней гиперчувствительности или аутоиммунных заболеваний. Так, дефицит IgA способствует всасыванию через слизистую оболочку чужеродных антигенов, которые вызывают сенсибилизацию организма.

Клиническими проявлениями иммунодефицитных состояний могут служить инфекции, вызванные условно-патогенными микроорганизмами, аутоиммунные заболевания, аллергические реакции, опухоли. В полости рта нередко проявляются заболевания микробной этиологии (стоматит, гингивостоматит и др.), которые являются следствием первичных и вторичных иммунодефицитных состояний. Так, у детей, страдающих иммунологической недостаточностью, слизистая оболочка рта часто поражается бактериями, вирусами или грибами в результате резкого снижения клеточной или гуморальной защиты. Такие осложнения наблюдаются у детей с первичными дефектами — врожденной дисплазией тимуса, приобретенным лимфогранулематозом, лейкозами, избирательным дефицитом IgA, лизоцима или интерферона. Аналогичные осложнения характерны для больных со вторичными иммунодефицитными состояниями, индуцированными медикаментозной терапией (глюкокортикостероидами и др.). В патогенезе кандидоза слизистой оболочки рта преобладают эндогенные причины. Главной из них являются вторичные иммунодефицитные состояния, возникающие при диабете, лейкозах, хронических инфекциях (туберкулезе и других), в послеоперационном периоде. Показательна особенно высокая восприимчивость к кандидозной инфекции у грудных детей и стариков, т.е. у лиц, у которых наблюдаются возрастные иммунодефицитные состояния. При отсутствии у больных кандидозом специ-

фических антител и одновременном снижении специфической кожно-аллергической реакции можно прогнозировать неблагоприятное течение заболевания.

Вопросы для самоконтроля

1. Какие виды микроорганизмов относятся к аутохтонной и транзиторной микрофлоре полости рта?
2. Какие факторы влияют на микробную колонизацию полости рта?
3. Каковы возрастные особенности микрофлоры полости рта?
4. Какими факторами и механизмами обеспечивается неспецифическая защита полости рта?
5. Какова роль SIgA в местном иммунитете слизистой оболочки рта?
6. Какие метаболические особенности кариесогенных микроорганизмов определяют развитие кариеса?
7. Какие виды микроорганизмов причастны к патогенезу парадонтопатий?
8. Каковы иммунопатологические механизмы развития заболеваний пародонта?
9. Назовите возможных возбудителей стоматитов бактериальной, грибковой и вирусной природы?
10. Каковы причины развития кандидоза слизистой оболочки рта?
11. Дайте характеристику микроорганизмам, встречающимся при одонтогенных воспалительных заболеваниях.
12. Какие типы аллергических реакций проявляются в полости рта?
13. Какова роль иммунодефицитов в заболеваниях слизистой оболочки рта?

Указатель латинских названий микроорганизмов

Предметный указатель

ОГЛАВЛЕНИЕ

Сведения об авторах

Борисов Леонид Борисович — профессор, академик РАЕН, засл. деятель науки РФ. СПб Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова.

Альтштейн Анатолий Давидович — профессор, академик РАЕН. Институт биологии гена, Москва.

Елинов Николай Петрович — профессор, засл. деятель науки РФ. НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, СПб.

Зуев Виктор Абрамович — профессор, академик РАЕН. НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалея РАМН, Москва.

Королюк Александр Михайлович — профессор, лауреат Государственной премии СССР. СПб ГПМА.

Козьмин-Соколов Борис Николаевич — профессор каф. микробиологии. СПб Государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова.

Красильников Алексей Петрович — профессор, засл. работник Высшей школы Белоруссии. Минский медицинский институт.

Сафьянова Вера Михайловна — профессор НИИ медиц. паразитологии и тропической медицины им. С.И. Марциновского, Москва.

Смольская Татьяна Тимофеевна — профессор НИИЭМ им. Л. Пастера, СПб.

Софронов Борис Николаевич — профессор НИИ эксперим. медицины РАМН, СПб.

Фрейдлин Ирина Соломоновна — профессор, засл. деятель науки РФ, чл.-корр. РАМН. НИИ эксперим. медицины РАМН, СПб.

БОРИСОВ Леонид Борисович

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

Учебник.
Для студентов медицинских вузов

Руководитель научно-информационного отдела, канд. мед. наук *А.С. Макарян*
Главный редактор, канд. мед. наук *Д.Д. Проценко*
Отв. за выпуск *Н.В. Лодыгина*
Корректор *И.Н. Голубева*
Компьютерная верстка *В.В. Голубев*

Гигиеническое заключение
№ 77.ФЦ.8.950.П.93.12.98 от 24.12.98.
Изд. лиц. № 064889 от 24.12.96.
Подписано в печать 26.10.2004. Формат 60×90 $^{1}/_{16}$.
Печать офсетная. Бумага офсетная.
Гарнитура Times. Объем 46 печ. л.
Тираж 5000 экз. Заказ № 3021

ООО «Медицинское информационное агентство»
119048 Москва, М. Трубецкая ул., д. 8
(ММА им. И.М. Сеченова), тел./факс 242-91-10, 245-86-20;
E-mail: miapubl@mail.ru;
http://www.medagency.ru
http://www.medkniga.ru

Отпечатано с готового оригинала-макета
ОАО «Типография «Новости»»
105005 Москва, ул. Фр. Энгельса, 46.

ISBN 5-89481-278-X
9 785894 812785